

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Especialidades Clínicas Odontológicas



TESIS DOCTORAL

Estudio morfológico de la estructura dentaria con microscopía electrónica de barrido en pacientes con osteogénesis imperfecta

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Andrea Martín Vacas

Directores

**Manuel Joaquín de Nova García
Vicente Vera González**

**Madrid
Ed. electrónica 2019**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE ESPECIALIDADES CLÍNICAS ODONTOLÓGICAS



ESTUDIO MORFOLÓGICO DE LA ESTRUCTURA DENTARIA CON MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO EN PACIENTES CON OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA

- TESIS DOCTORAL -

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Andrea Martín Vacas

DIRECTORES

Manuel Joaquín de Nova García

Vicente Vera González

Madrid, 2019

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE ESPECIALIDADES CLÍNICAS ODONTOLÓGICAS



ESTUDIO MORFOLÓGICO DE LA ESTRUCTURA DENTARIA CON MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO EN PACIENTES CON OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA

- TESIS DOCTORAL -

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Andrea Martín Vacas

DIRECTORES

Manuel Joaquín de Nova García

Vicente Vera González

Madrid, 2019



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

Facultad de Odontología
Plaza Ramón y Cajal S/N
Ciudad Universitaria
28040 Madrid

Departamento Especialidades Clínicas Odontológicas

MANUEL JOAQUÍN DE NOVA GARCÍA, Profesor Titular del Departamento de Especialidades Clínicas Odontológicas de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid,

CERTIFICA:

Que Dña. Andrea Martín Vacas ha realizado bajo mi dirección la tesis doctoral titulada "Estudio morfológico de la estructura dentaria con microscopía electrónica de barrido en pacientes con Osteogénesis Imperfecta", reuniendo las condiciones necesarias para optar al Grado de Doctor.

Madrid, 7 de marzo de 2019



FACULTAD DE ODONTOLOGIA
OPTO. DE ESPECIALIDADES
CLINICAS ODONTOLÓGICAS

Manuel Joaquín de Nova García



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
DEPARTAMENTO
ODONTOLOGÍA CONSERVADORA Y PRÓTESIS
BUCOFACIAL

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Plaza de Ramón y Cajal, s/n.

Ciudad Universitaria

28040 Madrid

VICENTE VERA GONZÁLEZ, Profesor Titular del Departamento de Odontología Conservadora y Prótesis Bucofacial de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid,

CERTIFICA:

Que Dña. Andrea Martín Vacas ha realizado bajo mi dirección la tesis doctoral titulada "Estudio morfológico de la estructura dentaria con microscopía electrónica de barrido en pacientes con Osteogénesis Imperfecta", reuniendo las condiciones necesarias para optar al Grado de Doctor.

Madrid, 7 de marzo de 2019



A todos los niños con Osteogénesis Imperfecta, que me han demostrado tener huesos de cristal, pero un espíritu de hierro, y de los que he aprendido que la fuerza no solo rompe, sino que, por encima de todo, une. Por todos vosotros.

Agradecimientos

A mis directores, Joaquín de Nova y Vicente Vera, sin los que la realización de este trabajo hubiese sido imposible. Gracias por guiarme a lo largo de éstos casi 4 años, me llena de orgullo haber llevado a cabo este largo camino junto a vosotros, y espero poder recorrer un largo camino juntos.

Gracias a Rosa Mourelle, quien me ha acompañado desde los primeros años de carrera universitaria, siendo mi primer contacto con la odontopediatría y enseñándome a ver detrás de los dientes y a amar la profesión.

Gracias a toda la “familia” de profesores y alumnos del título propio de “Especialista en Odontología Integrada en el niño con Necesidades Especiales”, que me han ayudado en mi papel de Ratoncito Pérez. Gracias a mis compañeros del Máster de Odontopediatría, a mis compañeras de la Universidad Alfonso X El Sabio, a mis amigos y amigas, a todos vosotros, que os he hablado de mi Tesis hasta aburriros. Gracias a Ana Vicente y a Santiago Cano, que han colaborado con sus conocimientos en áreas para mí desconocidas. Gracias a todos los que, de forma más o menos directa, habéis participado.

Mamá, papá, gracias. No existen palabras que describan el agradecimiento que para mí supone contar con vuestro apoyo incondicional. Sin duda, todos mis éxitos son y serán el reflejo de la educación y los valores que me habéis transmitido.

Al resto de mi familia, gracias por contribuir a lo que hoy en día soy. En especial a mi abuelo Andrés, quien desde bien pequeña me ha enseñado la importancia del conocimiento y la fuerza de voluntad, y del que hoy en día sigo aprendiendo. A mis abuelas Mamen y Ninfa, a mi abuelo Ambrosio, y a mi tío Luis, porque se lo mucho que hubiera significado para vosotros estar hoy aquí conmigo, os llevo en mi corazón.

A ti, Benjamín, por tu apoyo, tu experiencia y tu cariño. Gracias por entender los agobios, las prisas y por intentar ayudarme en todo momento.

Índice

RESUMEN	1
SUMMARY	4
ABREVIATURAS	7
INTRODUCCIÓN	10
Embriología y desarrollo dentario	11
Origen de los tejidos dentarios	11
Morfogénesis del órgano dentario	11
Histogénesis del órgano dentario	15
Patología de la morfogénesis e histogénesis dentaria	17
Ultraestructura del esmalte y la dentina	18
Esmalte	18
Dentina	20
Osteogénesis imperfecta	23
Definición	23
Epidemiología	23
Etiología	23
Diagnóstico	24
Clasificación	25
Tratamiento	27
Manifestaciones craneofaciales de la Osteogénesis Imperfecta	29
Dentinogénesis Imperfecta tipo I	31
Definición	31
Epidemiología	31
Etiología	32
Diagnóstico	32
Tratamiento odontológico en la Osteogénesis Imperfecta	34
ANTECEDENTES	37
Alteraciones en la ultraestructura dentaria en sujetos con Osteogénesis Imperfecta	38
Antecedentes bibliográficos más importantes	40
JUSTIFICACIÓN	44
HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS	46
Hipótesis de trabajo	47
Objetivo general	48
Objetivos específicos	48

MATERIAL Y MÉTODO	49
Diseño del estudio.....	50
Muestras	50
Aspectos legales y éticos.....	50
Tamaño muestral y procedimiento de muestreo	51
Muestra de estudio (dientes de sujetos con OI)	51
Muestra control (dientes de sujetos sin OI).....	53
Tratamiento de las muestras dentarias	54
Variables de estudio.....	56
Análisis estadístico	60
RESULTADOS	61
Estudio de las características morfológicas dentarias en una muestra de dientes procedentes de sujetos con Osteogénesis Imperfecta en comparación con un grupo control.	62
Estudio de la fiabilidad de las medidas de las variables.....	62
Descripción de la muestra de estudio y la muestra control.....	64
Análisis comparativo entre la muestra de estudio control y la muestra control.....	79
Estudio de la relación entre los hallazgos clínicos, radiográficos y ultraestructurales en una cohorte de sujetos con Osteogénesis Imperfecta.....	91
Estudio de la fiabilidad de las medidas de las variables.....	91
Descripción de la muestra de estudio	92
Análisis comparativo de las variables en la muestra de estudio.....	98
DISCUSIÓN.....	100
Fiabilidad y reproducibilidad del estudio	101
Características ultraestructurales dentarias de la dentición temporal en la población sana	103
Características ultraestructurales dentarias de la dentición temporal en sujetos con Osteogénesis Imperfecta	107
Características de la dentición temporal en sujetos con Osteogénesis Imperfecta	114
Debilidades y fortalezas del estudio	118
CONCLUSIONES	120
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	122
ANEXOS	132

ESTUDIO MORFOLÓGICO DE LA ESTRUCTURA DENTARIA CON MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO EN PACIENTES CON OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA

Introducción

La Dentinogénesis Imperfecta (DGI) tipo I es una afectación hereditaria de la dentina que se asocia a la Osteogénesis Imperfecta (OI). La alteración del metabolismo del colágeno tipo I, principalmente a nivel de los genes COL1A1 y COL1A2, da lugar a anomalías en la estructura dentaria, que se manifiestan mediante alteraciones dentarias a nivel clínico y radiográfico. Los avances científicos han permitido un mejor conocimiento de la enfermedad, sin embargo, es necesario un estudio que analice las anomalías ultraestructurales dentarias de forma protocolizada, aportando una definición adecuada de la DGI-I.

Objetivos

El objetivo general de la investigación fue estudiar y describir la afectación de la dentición temporal de sujetos con OI a nivel del esmalte, la dentina y la unión amelodentinaria mediante microscopía electrónica de barrido, en comparación con un grupo control no afecto. Además, se planteó como objetivo la comparación, tanto con el grupo control como entre los fenotipos de OI, del diámetro tubular, el recuento tubular, y la cantidad de calcio y fósforo dentinario. Posteriormente se analizó la relación de los hallazgos ultraestructurales encontrados y la presencia de alteraciones a nivel clínico y radiográfico.

Metodología

Se analizó el esmalte, la unión amelodentinaria y cuatro puntos de la dentina de 25 dientes temporales procedentes de pacientes con OI y 30 dientes control, mediante microscopía electrónica de barrido. Posteriormente se analizaron las alteraciones clínicas y radiográficas de sujetos con OI, en relación a los hallazgos ultraestructurales dentarios. Se efectuaron tests estadísticos con un nivel de confianza del 95%.

Resultados

Se observan alteraciones estructurales en el esmalte (60%), unión amelodentinaria (64-72%) y dentina (100%) en dientes de sujetos con OI, siendo más frecuente y severa la afectación de la dentina oclusal en los sujetos con un fenotipo más grave de OI ($p=0,012$). La densidad tubular en dientes con OI es menor en la dentina pulpar en comparación con los dientes control ($p=0,027$), además de existir una mayor densidad y diámetro tubular en la región de dentina oclusal ($p=0,003$ y $p=0,018$) encontrándose diferencias significativas ($p<0,05$) entre la OI tipo I (leve) y tipo III (severo). La cantidad de calcio dentinario es similar en los dientes con OI al grupo control ($p=0,478$), pero se encuentra una menor cantidad de fósforo ($p=0,016$), aunque no existen ($p>0,05$) diferencias con respecto al fenotipo de la OI.

Los sujetos con OI presentan alteraciones clínicas (41,2%) y radiográficas (69,2%), siendo las alteraciones clínicas más frecuentes en los fenotipos más severos de OI ($p=0,044$). Un 30,8% de la muestra no presentaba alteraciones clínicas ni radiográficas, mientras que un 38,5% presentaba alteraciones radiográficas aisladas y un 30,8% alteraciones clínicas y radiográficas conjuntas, aunque sin significación estadística.

Conclusiones

Los sujetos con OI presentan alteraciones ultraestructurales dentarias en el esmalte, unión amelodentinaria y dentina. Se encuentran diferencias en el diámetro y densidad tubular

dentinaria entre los dientes con OI y los controles en la dentina pulpar y oclusal, encontrándose diferencias entre el tipo I y III de OI. Los dientes con OI presentan una menor cantidad de fósforo que los dientes control.

Los pacientes con OI presentan alteraciones dentarias clínicas y radiográficas definidas como DGI-I. Las alteraciones clínico-radiográficas pueden estar ausentes, presentarse de forma exclusivamente radiográfica o aparecer de forma simultánea en ambos niveles.

SUMMARY

MORPHOLOGICAL STUDY OF THE DENTAL STRUCTURE WITH ELECTRONIC SCANNING MICROSCOPY IN PATIENTS WITH OSTEOGENESIS IMPERFECTA

Introduction

Dentinogenesis Imperfecta (DGI) is a hereditary condition of dentin that is associated with Osteogenesis Imperfecta (OI). The alteration of the metabolism of type I collagen, mainly at the level of the COL1A1 and COL1A2 genes, gives rise to anomalies in the dental structure, which is manifested by clinical and radiographic dental alterations. Although scientific advances have allowed a better knowledge of the disease, it's necessary a protocolized study that analyses the ultrastructural anomalies, providing an adequate definition of the DGI-I.

Objectives

The general objective of the research was to study and describe the involvement of the temporal dentition of subjects with OI at the enamel, dentin and dentin-enamel junction by means of scanning electron microscopy, in comparison with an unaffected control group. In addition, we proposed to compare, both with the control group and between the OI phenotypes, the tubular diameter, the tubular count, and the amount of calcium and phosphorus in the dentin. Subsequently, the relationship between the ultrastructural findings and the presence of alterations at a clinical and radiographic level was analysed.

Methodology

The enamel, the dentin-enamel junction and four points of the dentin of 25 temporary teeth from patients with OI and 30 control teeth were analysed by scanning electron microscopy. Subsequently, the clinical and radiographic alterations of subjects with OI were analysed, in relation to the dental ultrastructural findings. Statistical tests were performed with a confidence level of 95%.

Results

Structural alterations were observed in enamel (60%), dentin-enamel junction (64-72%) and dentine (100%) in teeth of subjects with OI, with occlusal dentin being more frequent and severe in subjects with a most serious phenotype of OI (p 0.012). The tubular density in teeth with OI is lower in pulp dentin compared to control teeth (p 0.027), in addition to a greater density and tubular diameter in the occlusal dentin region (p 0.003 and p 0.018), significant differences being found (p <0.05) between OI type I (mild) and type III (severe). The amount of dentin calcium is similar in the teeth with OI to the control group (p 0.478), but a lower amount of phosphorus is found (p 0.016), although there are no differences (p > 0.05) with respect to the phenotype of the OI.

The subjects with OI presented clinical (41.2%) and radiographic (69.2%) alterations, being the clinical alterations more frequent in the most severe OI phenotypes (p 0.044). A 30.8% of the sample did not present clinical or radiographic alterations, while 38.5% had isolated radiographic alterations and 30.8% combined clinical and radiographic alterations, although without statistical significance.

Conclusions

The subjects with OI present ultrastructural dental alterations in the enamel, dentin-enamel junction and dentine. There are differences in dentinal tubular diameter and density between the teeth with OI and the controls in the pulp and occlusal dentin, finding differences

between type I and III of OI. The teeth with OI have a lower amount of phosphorus than the control teeth.

Patients with OI present clinical and radiographic dental alterations defined as DGI-I. The clinical-radiographic alterations may be absent, presented exclusively radiographic or appear simultaneously at both levels.

ABREVIATURAS

μm	Micrómetros
AAN	Análisis por activación de neutrones
AAS	Absorción atómica por espectrofotometría
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AHUCE	Asociación de Huesos de Cristal de España
AMOI	Asociación de Osteogénesis Imperfecta de Madrid
ARN	Ácido Ribonucleico
ATM	Articulación temporomandibular
BMPs	Proteínas morfogenéticas óseas
CatK	Catepsina K
CCI	Coeficiente de correlación intraclase
CCI	Coeficiente de correlación intraclase
CEIC	Comité Ético de Investigación Clínica
cps	Counts per second, o cuentas por segundo
cps	Cuentas por segundo
DGI-I	Dentinogénesis Imperfecta tipo I
DMAB	Denosumab
DMB	Densidad ósea mineral
DMP-1	Fosfoproteína ácida de matriz de dentina
DPP	Fosfoproteína dentinaria
DSP	Sialoproteína dentinaria
DSPP	Sialofosfoproteína dentinaria
EDS	Espectroscopía de dispersión de energía
FGFs	Factores de crecimiento fibroblástico
GH	Hormona del crecimiento
LBA	Lámina basal ameloblástica
MB	Membrana basal
MEB	Microscopio Electrónico de Barrido
MEB	Microscopio electrónico de barrido
mm	Milímetros
mm ²	Milímetros cuadrados

MO	Microscopio óptico
NE	Nudo primario del esmalte
OI	Osteogénesis Imperfecta
PTH	Hormona paratiroidea
RANKL	Ligando de receptor activador para el factor nuclear κ B
Scl-Ab	Anticuerpos inhibidores de la esclerostina
Shh	Proteínas Hedgehog
TFG- β	Factor de crecimiento transformante β
UAD	Unión amelodentinaria
UCM	Universidad Complutense de Madrid

INTRODUCCIÓN_

Embriología y desarrollo dentario

Origen de los tejidos dentarios

La odontogénesis es el proceso de desarrollo de la dentición en los huesos maxilares, dando lugar a dos tipos de dientes, los temporales, primarios, deciduos, o de leche, y los permanentes o definitivos, que tienen el mismo origen y una histología muy similar. El desarrollo dental comienza a partir de brotes epiteliales que, normalmente, empiezan su formación en la porción más anterior de los maxilares, avanzando en dirección posterior. Aunque la morfología de los brotes epiteliales es diferente dependiendo del diente al que darán su origen, el desarrollo de todos ellos es común, siendo gradual y paulatino (1).

En la formación de los dientes intervienen dos capas germinativas, que son el epitelio ectodérmico, que dará lugar al esmalte, y el mesénquima cefálico, que formará el complejo dentinopulpar, el cemento, el ligamento periodontal y el hueso alveolar. El mesénquima cefálico, denominado así por estar formado por células derivadas de la cresta neural que han migrado hacia la región cefálica, es el inductor de la odontogénesis. El efecto inductor del mesénquima cefálico es ejercido sobre el epitelio bucal que reviste al estomodeo, o cavidad bucal primitiva, dando lugar a un proceso con dos grandes fases (1, 2):

1. Morfogénesis o morfodiferenciación: se produce el desarrollo y formación de los patrones coronarios y radicular dentarios. Es el resultado de la división, desplazamiento y organización en distintas capas de poblaciones celulares, epiteliales y mesenquimatosas.
2. Histogénesis o citodiferenciación: consiste en la formación de los distintos tipos de tejidos dentarios en los patrones formados en la morfogénesis, y, por lo tanto, se corresponde con los procesos que darán lugar finalmente al esmalte, al cemento, a la dentina y a la pulpa.

Morfogénesis del órgano dentario

El comienzo del ciclo vital de los órganos dentarios comienza en la 6ª semana de vida intrauterina, estando compuesto por cambios químicos, morfológicos y funcionales que continúan a lo largo de toda la vida dentaria (1, 2).

La primera manifestación del ciclo vital dentario es la diferenciación de la lámina dental a partir del ectodermo que reviste el estomodeo. La membrana basal (MB) permite la conexión entre el epitelio ectodérmico y el mesénquima, teniendo una gran importancia en la diferenciación celular y en la organogénesis dental. El mesénquima cefálico subyacente induce a las células epiteliales basales a proliferar a lo largo del borde libre los futuros maxilares, dando lugar a dos estructuras nuevas, la lámina vestibular y la lámina dentaria, que darán lugar respectivamente al surco vestibular y a los gérmenes dentarios (1-3).

Los gérmenes dentarios se originan como crecimientos epiteliales dentro del mesénquima cefálico de los maxilares, comenzando la formación de los gérmenes dentarios de los dientes temporales en la 8ª semana de vida intrauterina. Los gérmenes dentarios de los dientes permanente con predecesor temporal se forman alrededor del 5º mes de vida

intrauterina por lingual o palatino de los dientes temporales, mientras que los molares permanentes se originan por una extensión distal de la lámina dental, observándose el primer indicio del primer molar permanente en el 4º mes de gestación (1).

La evolución de los gérmenes dentarios sigue una serie de etapas morfológicas que se denominan estadio de brote o yema, estadio de casquete, estadio de campana y estadio de folículo dentario, terminal o maduro.

El mesénquima cefálico posee los inductores primarios de la odontogénesis, siendo también el encargado de la regulación de la morfología dentaria. Los mecanismos de inducción de la odontogénesis son complejos, involucrando cambios químicos y estructurales antes, durante y después de la diferenciación y especialización celular de los ameloblastos y odontoblastos. En estudios experimentales sobre cultivos en embriología experimental se han observado que las moléculas implicadas en el proceso son numerosas. Entre las moléculas más importantes que intervienen en la interacción entre el epitelio y el mesénquima están los pertenecientes a las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), los factores de crecimiento fibroblásticos (FGFs), las proteínas Hedgehog (Shh) y las proteínas Wnt (1-6) (Figura 1).

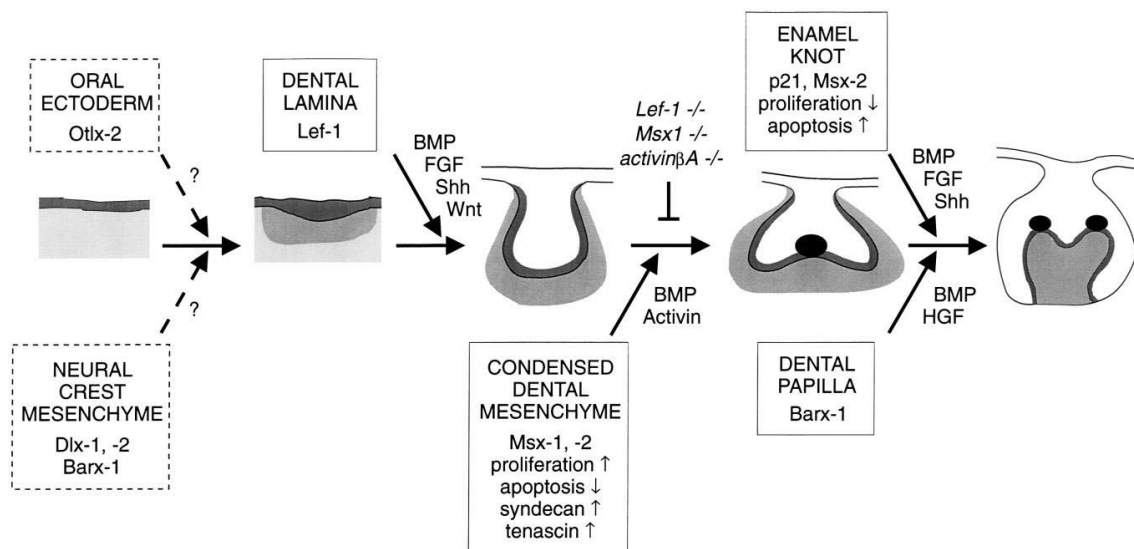


Figura 1. Inducción epitelio-mesénquima secuencial y recíproca que regula la morfogénesis dental. Se pueden observar en las flechas las moléculas señal, además de los factores transcripcionales que se sugieren como asociados al desarrollo dental y a las interacciones tisulares, que se encuentran en las cajas junto a los tejidos señal. Tomado de Thesleff y Sharpe (6).

Formación de la corona dentaria

1. **Estadio de brote o yema:** Consiste en la aparición de engrosamientos de origen epitelial, que serán los futuros órganos del esmalte y originarán el esmalte dental. Las células del mesénquima cefálico subyacentes al brote están condensadas bajo el epitelio de revestimiento y alrededor del brote epitelial, futura papila dentaria (1-3).
2. **Estadio de casquete:** En esta fase tiene lugar una proliferación desigual de las caras laterales o bordes del brote, adquiriendo forma cóncava en su cara profunda, y encerrando una región ectomesenquimatosa en su interior, que mediante la condensación celular y la

aparición de capilares da lugar a la papila dentaria, que en el futuro formará el complejo dentinopulpar (1).

Histológicamente se pueden diferenciar en el órgano del esmalte u órgano dental tres estructuras; el epitelio externo, el epitelio interno y el retículo estrellado. La papila dentaria y el epitelio interno del órgano del esmalte están separados por la MB, que representa la futura unión amelodentinaria (UAD). El mesénquima que rodea al casquete dentario se condensa, adquiriendo una estructura fibrilar y formando el saco dentario primitivo o folículo dental, que rodea por completo al casquete, salvo en el pedículo o región de unión del órgano del esmalte con la lámina dental. Al conjunto del órgano del esmalte, la papila y el saco dentario se le denomina a partir de entonces germen dentario (1-3).

Además, en el epitelio interno del órgano del esmalte se produce un acumulo celular que se denomina nudo primario del esmalte (NE), del cual nace una prolongación celular que adquiere el nombre de cuerda del esmalte, terminando en el epitelio externo en forma de muesca. La cuerda del esmalte parece funcionar como un centro de regulación de la morfogénesis de las cúspides dentarias (1-3).

3. *Estadio de campana*: Se produce una acentuación de la invaginación del epitelio interno del órgano del esmalte, además de la aparición de una nueva capa en el órgano del esmalte, el estrato intermedio, situada entre el retículo estrellado y el epitelio interno. Además, tiene lugar la diferenciación de las células del epitelio interno en preameloblastos, que ejercen una acción inductora sobre la papila dentaria, dando lugar a que las células indiferenciadas o totipotentes se diferencien en odontoblastos, futuros secretores de dentina (1-3).

Se describe una membrana de condensación entre el epitelio interno del órgano del esmalte y la papila dentaria que actualmente se denomina lámina basal ameloblástica (LBA), compuesta por la MB y fibras aperiódicas. Esta LBA es principalmente filamentososa, detectándose colágeno tipo I, III, IV y VI, laminina, entactina y fibronectina, heparán sulfato, proteoglicanos, etc. La LBA es la futura UAD, y parece estar muy relacionada con la predentina temprana (1).

En este periodo de campana, y previo al fenómeno de aposición mineral, se determina la morfología de la corona dentaria, por señales de la papila dental sobre el epitelio interno del órgano dental, dando lugar mediante pliegues a la morfología, distribución y número de las cúspides dentarias (1, 3).

En la etapa de campana avanzada los preameloblastos y los preodontoblastos se transforman en ameloblastos y odontoblastos secretores o maduros. Los ameloblastos presentan una prolongación cónica en la región libre o secretora denominada proceso de Tomes, esencial en el proceso de síntesis y secreción de esmalte prismático. En el extremo libre de los odontoblastos se diferencia una prolongación citoplasmática que queda localizada en la matriz dentinaria, denominado proceso odontoblástico o prolongación odontoblástica. Los odontoblastos sintetizan las fibrillas colágenas tipo I, y pequeñas cantidades de colágeno tipo III, y los glicosaminoglicanos de la matriz orgánica de la dentina; el proceso de dentinogénesis es continuo, comenzando en la región de las cúspides dentarias y finalizando al llegar al asa cervical. Los ameloblastos comienzan a secretar la matriz del esmalte una vez ya se han formado las primeras capas de dentina calcificada (1, 2).

Con el comienzo de la dentinogénesis se produce la penetración de delgadas prolongaciones nerviosas, dependientes del nervio trigémino. Con respecto a la irrigación,

aunque algunas agrupaciones de vasos sanguíneos penetran en la papila en la etapa de casquete, estas se localizan principalmente en el lugar que ocupará posteriormente la raíz dentaria. Con la formación de dentina, la porción central de la papila se transforma en pulpa dentaria, formada por fibroblastos y abundante sustancia fundamental, principalmente ácido hialurónico y condroitín sulfato. Las fibras presentes en la pulpa dentaria son fibras oxitalánicas y precolágenas estriadas (1-3).

El saco dentario está formado por una capa interna célula-vascular y otra externa con abundantes fibras colágena, especialmente colágeno I y III; estas fibras colágenas y precolágenas se disponen de forma circular rodeando al germen dentario. De la capa celular derivarán los componentes del periodonto de inserción; cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar (1).

En el estadio de campana se produce la desintegración de la conexión epitelial bucal, persistiendo restos epiteliales de la lámina dentaria, que son denominados perlas de Serres (1, 3). En esta etapa de campana se produce una proliferación del borde más profundo de la lámina dentaria, transformándose en un extremo libre situado en lingual o palatino con respecto al órgano del esmalte, formando el esbozo o brote del diente permanente (1).

4. *Estadio terminal o de folículo dentario (apositional)*: Esta etapa comienza cuando se identifica la presencia de depósito de la matriz del esmalte sobre las capas de la dentina en la zona de las futuras cúspides o borde incisal dentario (1).

El crecimiento del esmalte y la dentina se produce por el depósito de una matriz extracelular por los ameloblastos y odontoblastos, respectivamente, de forma sucesiva, alternando periodos definidos de actividad y reposo. Inmediatamente tras el depósito de la matriz orgánica se produce la mineralización. El proceso de formación del esmalte es centrífugo, mientras que el de la dentina es centrípeto (1).

El proceso de formación de la corona se inicia en la región cuspídea o incisal, extendiéndose paulatinamente hacia cervical. En los dientes con varias cúspides el proceso se inicia independientemente en cada cúspide para luego unirse entre sí, dando lugar a los surcos de la cara oclusal (1).

La LBA, o futura UAD, puede ser lisa o presentar un aspecto ondulado o festoneado. Además, la LBA puede presentar soluciones de continuidad a través de las cuales se extienden prolongaciones odontoblásticas, que forman los husos adamantinos o túbulos dentinarios remanentes. El entrecruzamiento de cristales de esmalte y dentina parece ejercer un efecto de unión mecánica entre el esmalte y la dentina; además, existe una disposición de fibras de colágeno I en la dentina, perpendiculares al borde amelodentinario, que en contacto con la fibronectina parece contribuir a la estabilidad de la unión entre el esmalte y la dentina por un efecto adhesivo (1).

Al finalizar la formación de la corona se produce una atrofia del órgano del esmalte constituyendo un epitelio dental reducido, que, con la erupción dental, queda unido a la mucosa bucal formando el epitelio de unión y estableciendo el surco gingival (1).

Desarrollo y formación del patrón radicular

La fusión del epitelio interno y externo del órgano del esmalte, en ausencia del retículo estrellado, en la región del asa cervical se denomina vaina epitelial de Hertwig. Ésta estructura es la principal inductora y modeladora de la raíz del diente. La proliferación en profundidad de la vaina epitelial induce a la papila dental para la diferenciación de odontoblastos radiculares, que comienzan la formación de dentina radicular (1).

Con el depósito de dentina radicular, la vaina epitelial de Hertwig se desintegra, formando los restos epiteliales de Malassez. A continuación, se produce una diferenciación de las células indiferenciadas del mesénquima cefálico del saco dentario a cementoblastos. En los dientes multirradiculares la vaina emite lengüetas epiteliales, dirigidas hacia el eje del diente, destinadas a formar el piso de la cámara pulpar, y que proliferan en profundidad para formar raíces individuales (1).

Con el final de la formación de la raíz la vaina epitelial se curva hacia dentro, marcando el final de la raíz y tapizando el orificio apical primario, por el que entran y salen los nervios y vasos sanguíneos de la cámara pulpar. A partir de este momento, a la papila se le denomina pulpa dental (1).

Histogénesis del órgano dentario

Consiste en la citodiferenciación que da lugar a la formación de los distintos tipos de tejidos dentarios. Dependiendo del tejido al que nos estemos refiriendo, esmalte, dentina o cemento, la histogénesis recibe el nombre de amelogénesis, dentinogénesis o cementogénesis (1).

Con el objetivo de centrarnos en nuestro estudio, a continuación, se hablará de la histogénesis del esmalte y de la dentina, excluyendo el capítulo correspondiente a la histogénesis del cemento dentario.

Amelogénesis

La amelogénesis comprende dos grandes fases; la secreción de la matriz orgánica extracelular y la mineralización de la matriz orgánica (1).

El primer depósito de dentina en el estadio de campana avanzada induce la diferenciación de los ameloblastos secretores, sirviendo por lo tanto como señalización en el proceso de amelogénesis. El proceso de síntesis de la matriz orgánica del esmalte en forma de gránulos secretores o cuerpos adamantinos se inicia en el interior celular, siendo expulsado al exterior por exocitosis. Con la secreción de matriz orgánica el ameloblasto es desplazado hacia la periferia. Una vez secretada la cantidad necesaria de esmalte para conformar la corona dentaria, los ameloblastos secretan una membrana orgánica no mineralizada que se denomina cutícula primaria (1, 2).

El depósito inicial de mineral se produce en la UAD, creciendo posteriormente los cristales siguiendo el eje longitudinal, por adición progresiva de iones. Los iniciadores de la mineralización son la sialofosfoproteína dentinaria (DSP) y la tuftelina, ya que tienen una gran

capacidad de unirse al componente mineral. Alrededor de los cristales se encuentran nanosferas de amelogenina, que dejan la región del cristal cercana al odontoblasto liberada, para que pueda producirse el crecimiento del cristal por aposición de calcio y fósforo, aportados por el odontoblasto. La disposición de las proteínas del esmalte regula la forma y el tamaño del cristal de hidroxiapatita, y la actividad enzimática remodela la matriz orgánica, degradando y eliminando el componente orgánico. El proceso de mineralización es progresivo, avanzando mediante la eliminación acuosa y orgánica, hasta obtener un contenido del 95% de materia inorgánica (1, 2).

Dentinogénesis

La dentinogénesis es el conjunto de mecanismos por el cual se forma la dentina, mediante la calcificación de la matriz orgánica sintetizada por los odontoblastos. En el proceso de dentinogénesis se pueden distinguir tres fases, la elaboración de la matriz orgánica, la maduración de la matriz y la precipitación de sales minerales para la mineralización de la matriz orgánica. En el proceso de formación y mineralización de la dentina intervienen las proteínas más específicas de la matriz dentinaria, la fosfoproteína ácida de matriz de dentina 1 (DMP-1), la sialofosfoproteína dentinaria (DSPP), la sialoproteína dentinaria (DSP) y la fosfoproteína dentinaria (DPP) (1).

La primera pre dentina se forma a partir de la aparición de fibras reticulares entre los cuerpos de los odontoblastos, denominadas fibras de Von Korff, que parecen formarse en la región subodontoblástica, y por lo tanto se cree que tienen un origen pulpar. Esta primera pre dentina es la que dará lugar a la dentina de manto (1-3).

Una vez que ha conseguido un espesor aproximado de 6 μm de pre dentina de manto, los odontoblastos comienzan el proceso de mineralización mediante la secreción de vesículas matriciales, que almacenan principalmente calcio y fosfato, precipitado inicialmente como fosfato cálcico amorfo y que pronto comienza a transformarse en cristales de hidroxiapatita. Las vesículas matriciales se unen al colágeno de la matriz orgánica de la dentina mediante la proteína transmembrana anexina. Con el crecimiento de los cristales en el interior de las vesículas matriciales, éstas se rompen y esparcen los cristales en la matriz circundante en forma de núcleos de mineralización que se fusionan con otros centros vecinos, dando lugar a un frente lineal de mineralización (1).

De forma simultánea al comienzo de la mineralización de la dentina, los ameloblastos fagocitan la LBA, por lo que la futura UAD estará formada por un entrecruzamiento de ambos tejidos (1).

A medida que se calcifica la dentina de manto, los odontoblastos continúan secretando matriz orgánica para formar el resto de dentina, que es la dentina circumpulpar. La mineralización de la dentina circumpulpar difiere de la dentina de manto, ya que no se produce mediante vesículas matriciales sino mediante núcleos de cristalización globulares denominados calcosferitos. Ésta mineralización globular implica la aposición sucesiva de cristales de hidroxiapatita en varios puntos a la vez, sobre la red fibrilar colagénica, que posteriormente se fusionan entre sí formando el frente de mineralización (1).

La formación de la dentina radicular comienza cuando se ha finalizado la amelogénesis y la dentinogénesis de la corona dental se encuentra en un estadio muy avanzado, siguiendo un patrón de formación similar a la dentinogénesis de la corona dentaria (1, 2).

Patología de la morfogénesis e histogénesis dentaria

Durante el proceso de embriogénesis dentaria pueden producirse alteraciones, que dependiendo de la etapa del desarrollo en la que ocurran pueden afectar a los órganos dentarios causando alteraciones del número, tamaño, forma o estructura dentaria. Son múltiples los genes y moléculas implicados en el proceso de morfogénesis e histodiferenciación dentaria. La alteración de estos genes y moléculas constituyen la causa primaria de la mayoría de las anomalías dentarias (1).

La afectación del brote o yema de la lámina dental que conlleva a su ausencia se producirá una agenesia dental. Si la población celular de la cresta neural es escasa y no se produce una migración a la región cefálica, o los estímulos inductores de la organogénesis son insuficientes también se ocasiona una ausencia congénita dentaria. Esta agenesia puede corresponderse con una oligodoncia, hipodoncia o anodoncia, dependiendo del número de dientes ausentes. Por otro lado, si se desarrollan gérmenes dentarios accesorios se producirá la aparición de dientes supernumerarios (1).

La forma dentaria puede verse alterada por alteraciones durante la morfodiferenciación, dándose lugar a macrodoncias o microdoncias, además de gigantismo o enanismo coronario o radicular (1).

Los procesos o enfermedades que afectan al embrión o feto pueden ocasionar que las células odontogénicas principales pierdan de forma temporal su función normal, ocasionando hipoplasias o hipocalcificaciones de esmalte o la dentina. Además, se puede producir pigmentación dentaria intrínseca por trastornos endógenos o ingesta de medicamentos en el periodo crítico de maduración del esmalte (1).

Los trastornos genéticos pueden afectar a la formación del esmalte y dentina por alteración de la función de los ameloblastos y/o los odontoblastos, originando la amelogénesis imperfecta, la dentinogénesis imperfecta o la displasia dentinaria, entre otras (1, 3).

Las células que integran la lámina dental y el órgano del esmalte pueden proliferar en forma de neoplasia, dando lugar a diferentes procesos tumorales, siendo los más frecuentes el ameloblastoma, el tumor odontogénico y el odontoma (1).

Ultraestructura del esmalte y la dentina

Esmalte

El esmalte es el tejido que recubre la dentina en su porción coronaria, funcionando como una estructura de protección para el diente. Debido a su alto contenido mineral, dispuesto en millones de prismas de esmalte, es el tejido más duro del organismo humano (1, 3).

Composición química del esmalte

El esmalte está constituido químicamente por una matriz orgánica (1%), una matriz inorgánica (96%) y agua (3%) (1, 3).

La matriz orgánica está constituida por un complejo sistema de multiagregados peptídicos específicos no colagénicos, entre los que destacan las amelogeninas (90%), el ácido glutámico, la histidina, la leucina, las enamelinas, las ameloblastinas y la tuftelina, entre otros. Además de las proteínas específicas, también se encuentran proteínas séricas, enzimas, condroitín sulfato y lípidos (1-3).

La matriz inorgánica está constituida por sales minerales cálcicas, formadas principalmente por fosfato y carbonato. Estas sales muestran una organización de apatita, depositándose en la matriz del esmalte, cristalizándose y transformándose posteriormente en cristales de hidroxiapatita. Existen también, aunque en menor porcentaje, sales minerales de calcio y oligoelementos. Además, los iones flúor pueden sustituir a los grupos hidroxilos de los cristales de hidroxiapatita, formando fluorhidroxiapatita, un cristal mucho más resistente al ataque ácido (1, 2).

El agua es un componente escaso en el esmalte dental, disminuyendo además con la edad de forma progresiva (1).

Estructura histológica del esmalte

La estructura del esmalte se constituye a partir de la unidad estructural básica, o prisma de esmalte, y por las unidades estructurales secundarias, que se originan a partir de las primeras.

La unidad estructural básica del esmalte es el prisma o varilla del esmalte, compuesta por cristales de hidroxiapatita. El conjunto de los prismas de esmalte forma el esmalte prismático, que es la mayor parte de la matriz mineralizada del esmalte; sin embargo, en la periferia de la corona y en la UAD se encuentra un esmalte aprismático, sin estructura geométrica cristalina (1, 2).

Los prismas del esmalte son estructuras longitudinales que se dirigen desde la UAD hasta la superficie del esmalte, en un trayecto esencialmente rectilíneo, aunque cuenta con ondulaciones. En cortes transversales, los prismas se observan como estructuras en “ojo de cerradura de llave antigua”, y en cortes longitudinales son estructuras irregularmente paralelas. Los prismas de esmalte están íntimamente relacionados entre sí, lo que les confiere una gran resistencia ante las fuerzas masticatorias. El material orgánico, aunque escaso, se distribuye en la periferia de los prismas de esmalte. Mientras que en los dientes primarios los prismas de

esmalte son horizontales en la región cervical y verticales en las cúspides dentarias, en los dientes permanentes los prismas tienen una orientación primordialmente vertical desde la región cervical (1, 2).

El esmalte aprismático se localiza en la superficie externa del esmalte dental y en la región más profunda del esmalte, cerca de la UAD. Éste esmalte sin formaciones cristalinas geométricas se encuentra en todos los dientes temporales y en el 70% de los dientes permanentes, siendo más frecuente en el área cervical. En el esmalte aprismático los cristales de hidroxiapatita se sitúan paralelos entre sí y perpendiculares a la superficie del esmalte (en la región exterior) y a la UAD (en la región interna), sin agruparse entre sí (1, 2, 7-10).

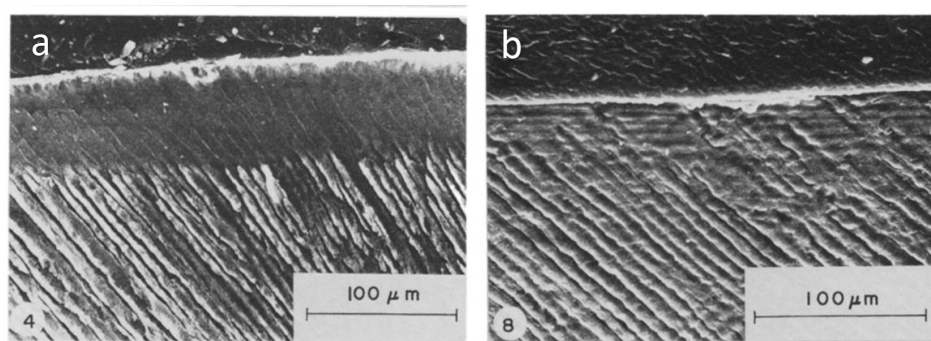


Figura 2. Esmalte de un molar temporal, en el que se observa que los prismas de esmalte pierden la estructura cristalina al acercarse a la superficie. Imagen obtenida con microscopio electrónico de barrido (MEB), observado con x214 aumentos (a). Esmalte de un molar permanente, con esmalte aprismático en la capa más superficial, imagen de MEB con x268 aumentos (b). Tomado de Whittaker y colaboradores (10).

Las unidades estructurales secundarias son las estructuras que se originan a partir de las unidades estructurales primarias por la presencia de un diferente grado de mineralización, un cambio en la dirección de los prismas de esmalte, y la relación del esmalte con la dentina o con el exterior. De esta forma, son unidades estructurales secundarias (1-3):

- Estrías de Retzius: son líneas incrementales que marcan la aposición sucesiva de capas de tejido durante la formación de la corona. Se relacionan con periodos de reposo en la mineralización, o trastornos durante la mineralización, indicando áreas menos mineralizadas. La línea neonatal, o de Rushton-Orban, es una estría de Retzius más evidente. En cortes transversales de la corona se observan como anillos concéntricos, y son más frecuentes en la región cervical de la corona.
- Penachos adamantinos o de Linderer: se extienden en el tercio interno del esmalte, desde la UAD, y son semejantes a microfisuras. Se cree que su formación se debe a cambios bruscos de grupos de prismas de esmalte, por lo que aparecerían áreas de tejido poco mineralizado.
- Bandas de Hunter-Schreger: se extienden ocupando la región interna del esmalte, sin afectar a la región más externa del mismo. Se encuentran en todos los dientes permanentes, o en dientes que todavía no han completado su formación. Se cree que están relacionados con la diferente orientación de los prismas de esmalte en los cortes histológicos.
- Esmalte nudoso: se localiza en las regiones cuspidas debido a la interrelación de los prismas de esmalte en las cúspides dentarias.

- Unión amelodentinaria: es la región de relación entre el esmalte y la dentina, siendo de gran importancia en la retención del esmalte sobre la dentina. La unión tisular entre el esmalte y la dentina no es rectilínea, sino que tiene una estructura festoneada al estar formado por concavidades.
- Husos adamantinos: son estructuras tubulares que se localizan en la región de la UAD, que alojan en su interior prolongaciones odontoblásticas. Se supone que las prolongaciones de los odontoblastos penetraron en el esmalte antes de la mineralización tisular, persistiendo tras la aposición mineral.
- Periquimatías y líneas de imbricación de Pickerill: se relacionan íntimamente con las estrías de Retzius y con el exterior dental. Las líneas de imbricación son surcos en la superficie del esmalte, generalmente en la porción cervical de la corona, que se corresponden con las estrías de Retzius observadas desde el exterior. Las periquimatías son rodetes formados entre las líneas de imbricación.
- Fisuras y surcos del esmalte: son invaginaciones en la superficie del esmalte de molares y premolares, que tienen su origen en la falta de coalescencia de las cúspides dentarias.
- Laminillas o microfisuras del esmalte: son formaciones similares a fisuras que se extienden desde la superficie del esmalte hasta la dentina, pudiendo incluso penetrar en ella. Dependiendo del momento de su aparición pueden ser primarias o secundarias.

Dentina

La dentina es el eje estructural del diente, constituyendo el tejido mineralizado más abundante en el diente.

Composición química de la dentina

La dentina consta de una matriz orgánica (18%), una matriz inorgánica (70%) y agua (12%) (1).

La matriz orgánica de la dentina está constituida en su mayor parte por colágeno (90%), proteínas no colágenas (10%) y fosfolípidos. El colágeno tipo I es el principal componente de la dentina, constituyendo un 98% del colágeno presente en la dentina, a pesar de ello también se encuentran en gran proporción colágeno III, IV, V y VI. De las proteínas no colágenas destacan las proteínas fosforiladas de la matriz, como la DPP, la DSP, la DSPP y la DMP-1 (1-3).

La matriz inorgánica está compuesta por cristales de hidroxiapatita, más pequeños y delgados que los existentes en el esmalte dental. Estos cristales están orientados paralelos a las fibras colagénicas de la matriz dentinaria, extendiéndose tanto entre las fibras como dentro de ellas. Además de hidroxiapatita se encuentran, en menor proporción, fosfatos amorfos, carbonatos, sulfato y calcio, entre otros (1, 2).

Estructura histológica de la dentina

La estructura histológica de la dentina se compone de unidades estructurales básicas y secundarias. Las unidades estructurales básicas de la dentina son los túbulos dentinarios y la matriz intertubular; y las unidades estructurales secundarias son aquellas formaciones que se

originan a partir de las unidades básicas por cambios en la mineralización o interrelación de las unidades básicas con el esmalte y/o cemento (1).

Los túbulos dentinarios son conductos que se extienden por todo el espesor de la dentina desde la pulpa hasta la UAD. La pared de los túbulos dentinarios está compuesta por dentina peritubular, formada por una matriz mineralizada, y alojan en su interior la prolongación odontoblástica principal o proceso odontoblástico. Rodeando al proceso odontoblástico y en el interior del túbulo dentinario se encuentra el fluido dentinal. El proceso odontoblástico y el fluido dentinal son los responsables de mantener la vitalidad pulpar. Los conductos de la región coronaria siguen un recorrido formando una “S itálica” en la que la región más externa forma una convexidad coronal, y la más interna una convexidad apical; en la raíz los túbulos siguen una curva de convexidad apical. La densidad tubular es mucho mayor en la región más cercana a la pulpa que en la dentina externa. El diámetro tubular también es variable, siendo mayor en la proximidad de la pulpa que en la región periférica. Los túbulos tienen canales secundarios en forma de ramificaciones, que conectan los túbulos entre sí partiendo de los túbulos dentinarios en ángulo recto. En el trayecto final de los túbulos dentinarios, en la región cercana a la UAD se encuentran ramificaciones terminales de los túbulos dentinarios, dando un aspecto arboriforme (1-3).

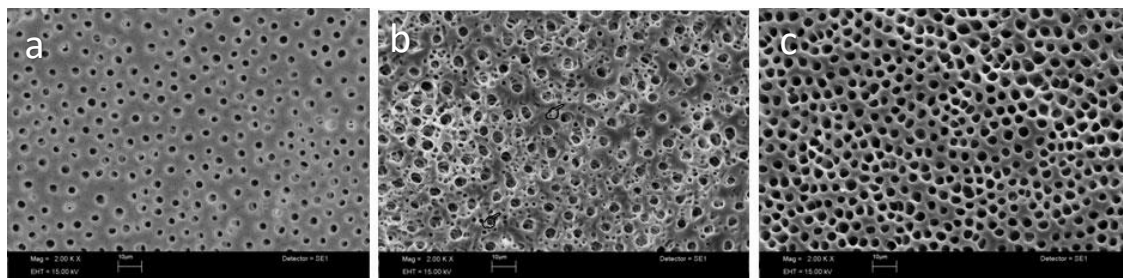


Figura 3. Imágenes representativas de MEB de la dentina superficial (a), media (b) y profunda (c) de dientes temporales, respectivamente. Puede observarse como tanto el diámetro como la densidad tubular aumentan al aproximarse al tejido pulpar, y la presencia de múltiples canalículos, sobre todo en la dentina media (señalados). Tomado de Lenzi y colaboradores (11).

La matriz o dentina intertubular se encuentra entre las paredes de los túbulos dentinarios, estando compuesta principalmente por fibras colágenas, que forman un entramado sobre el cual se depositan los cristales de hidroxapatita (1).

Las unidades estructurales secundarias de la dentina se corresponden con (1-3):

- Líneas incrementales o de crecimiento: debido a que el crecimiento de la dentina es por aposición, depositándose progresivamente nueva dentina, se pueden observar líneas de crecimiento como las líneas de Von Ebner (o líneas menores de incremento de la dentina) y las líneas de Owen (o líneas de contorno), que son perpendiculares a los túbulos dentinarios. Estas líneas se corresponden con áreas de menor calcificación de la dentina. la línea incremental más evidente es la línea neonatal.
- Dentina interglobular o espacios de Czermack: aparecen en la dentina coronaria y radicular. Son zonas limitadas por contornos de esferas que se originan por una mineralización defectuosa de los calcosferitos.

- Zona granulosa de Tomes: se encuentra en la periferia de la dentina radicular, en la región más cercana a la UAD y paralela a ella. Es una región de aspecto granular que se origina por una hipomineralización de las fibras de colágeno.
- Líneas o bandas dentinarias de Schreger: se corresponden con un cambio brusco en la dirección de los túbulos dentinarios.
- Unión amelodentinaria (UAD): es una línea festoneada y nítida entre el esmalte y la dentina.
- Unión cementodentinaria (UCD): es una línea poco evidente compuesta por un conjunto de fibras colágenas mineralizadas que se encuentra entre el cemento y la dentina.

En la dentina, dependiendo de criterios histológicos y topográficos, se distinguen tres regiones; la dentina del manto, la dentina circumpulpar y la predentina. La dentina del manto es la primera que se forma, y es la situada más periféricamente. Está sintetizada por los odontoblastos recién diferenciados y su matriz está formada por fibras colagénicas muy gruesas que se disponen paralelas a los túbulos dentinarios en la corona, y perpendiculares a ellos en la raíz. Debido a que su mineralización difiere de la dentina circumpulpar, su mineralización es más pobre; sin embargo, tiene un mayor número de túbulos dentinarios que la dentina más profunda, por albergar las ramificaciones terminales de los túbulos dentinarios. La dentina circumpulpar ocupa prácticamente todo el grosor de la dentina, y su matriz está compuesta por fibrillas colágenas dispuestas de forma irregular. La predentina es la capa de dentina situada junto a los odontoblastos, todavía sin mineralizar, por lo que está compuesta de una matriz orgánica (1, 2).

La dentina también se puede clasificar, según criterios histogenéticos, en tres tipos, la dentina primaria, la dentina secundaria y la dentina terciaria. La dentina primaria es la que se forma primero, considerándose desde la primera dentina que se deposita hasta que el diente entra en oclusión, y por lo tanto incluye la dentina de manto y gran parte de la dentina circumpulpar. La dentina secundaria es la que se produce una vez ya se ha completado la formación radicular, y su depósito continúa toda la vida del diente, y constituye solamente parte de la dentina circumpulpar. Por último, la dentina terciaria (reparativa, reaccional o patológica) es aquella dentina que se forma en el interior de la dentina en regiones en las que existe un estímulo patológico localizado, para aislar la pulpa del estímulo nocivo, normalmente dando lugar a una dentina desorganizada y deformando la cámara pulpar (1-3).

La dentina tiene capacidad reactiva ante las agresiones que actúan sobre ella, pudiendo formarse las denominadas dentina translúcida y dentina opaca. La dentina translúcida o esclerótica se produce por estímulos nocivos lentos y no muy graves, que depositan sales de calcio sobre las prolongaciones odontoblásticas, obliterando progresivamente los túbulos dentinarios. La dentina opaca se forma por lesiones nocivas intensas, que provocan la retracción o necrosis de las prolongaciones odontoblásticas, dejando vacíos los túbulos dentinarios (1).

Osteogénesis imperfecta

Definición

La Osteogénesis Imperfecta, conocida coloquialmente como “Enfermedad de los huesos de cristal”, fue descrita por primera vez en 1778 por Ekman como “osteomalacia congénita” (12, 13). Actualmente el término Osteogénesis Imperfecta (OI) se entiende como un síndrome que abarca un grupo heterogéneo, tanto fenotípica como molecularmente, de desórdenes hereditarios del tejido conectivo que se caracterizan por reducción de la masa ósea u osteopenia, causando fragilidad y deformidad ósea (14-16). Las anomalías esqueléticas de la OI ocasionan que los pacientes tengan una gran tendencia a fracturas a lo largo de la vida (17).

Epidemiología

Debido a que la expresión de la OI es muy variable, y al hecho de que comúnmente ocurren mutaciones nuevas, es difícil establecer una incidencia exacta de OI, ya que muchos pacientes podrían no estar diagnosticados adecuadamente, sobre todo aquellos con una expresión atípica o una sintomatología leve. Se considera que la OI se presenta sin predilecciones de sexo, raza o grupo étnico. La baja incidencia de la OI, se calcula que en torno a 1:15.000-20.000 nacidos vivos, la hace pertenecer al grupo de enfermedades raras. Se calcula que solamente un 0.008% de la población mundial está afectada por OI, lo que supondría medio millón de personas (15, 16, 18).

A pesar de que ninguna de las dos asociaciones españolas sin ánimo de lucro de la OI (AHUCE y AMOI) poseen un registro total de afectados por OI, según datos del 2013, se calcula que en España hay un número aproximado de 2700 personas con OI, aunque se desconoce la cifra real (15).

Etiología

El síndrome de OI comprende un conjunto de enfermedades hereditarias que se producen por un desorden heterogéneo del tejido conectivo, afectando a la producción del colágeno tipo I. Los avances en genética molecular han permitido establecer que la OI es en la gran mayoría de los casos, entre un 85-95%, una enfermedad de herencia autosómica dominante, causada por mutaciones en los genes COL1A1 (17q21.33) y COL1A2 (7q21.3) en los cromosomas 7 y 17 respectivamente, que codifican para las cadenas alfa 1 y 2 del colágeno tipo I, dando lugar a un colágeno disfuncional. Estas anomalías suponen en la mayoría de los casos alteraciones cualitativas y/o cuantitativas del colágeno, afectando tanto a su estructura como a la cantidad de colágeno disponible. En el 10% restante de los casos la OI se debe a mutaciones de herencia autosómica recesiva, o de causa desconocida, que interactúan de forma directa o indirecta con el colágeno en otros puntos de su metabolismo, produciendo modificaciones postranscripcionales en el plegamiento, el transporte intracelular o la incorporación en la matriz ósea del colágeno I (15, 19-22). Debido a los descubrimientos en genética de los últimos años, la OI se entiende actualmente como un desorden asociado al colágeno (16).

La primera causa genética de OI se identificó en 1983 como una delección interna en el gen del COL1A1 (23), y posteriormente se describieron otras mutaciones en los genes que codifican para el colágeno I. En la forma más leve de la enfermedad (OI tipo I) se produce una reducción cuantitativa del colágeno, ya que la mutación resultante es un alelo nulo del gen COL1A1 que da lugar a una degradación intracelular del procolágeno, permitiéndose solamente la secreción de procolágeno normal en un 50% de la cantidad normal. Por otro lado, en los fenotipos más severos (OI tipos II, III y IV) el defecto del colágeno es principalmente cualitativo, produciéndose una proteína anormal que es secretada a la matriz extracelular y que ocasiona un colágeno desorganizado, dando lugar a la disrupción de la matriz (20, 24, 25).

En 2006 se descubrió la primera causa genética de la OI letal autosómica recesiva, una deficiencia en la proteína asociada al cartílago (CRTAP)(26). Desde entonces, el gran avance de la genética molecular ha permitido el descubrimiento e identificación de múltiples genes responsables de formas menos frecuentes de OI. Estas mutaciones dan lugar a proteínas que interactúan en el metabolismo del colágeno I, produciendo alteraciones del mismo y ocasionando OI (27).

A pesar de los novedosos avances en genética, la única relación clara entre genotipo y fenotipo es que la terminación prematura de codones en el gen COL1A1 resulta en OI tipo I, mientras que las mutaciones que suponen anomalías en la estructura del colágeno producen fenotipos más severos (28).

Diagnóstico

El diagnóstico inicial de OI es principalmente clínico-radiográfico. El colágeno I es la proteína mayoritaria del hueso, por lo que las manifestaciones clínicas más evidentes se encuentran en estructuras óseas. Sin embargo, también existen manifestaciones extraóseas, ya que el colágeno I está presente también en tendones, ligamentos, piel, esclerótica, dientes y oído medio e interno (18, 19). Las fracturas por trauma leve, deformidad ósea en huesos largos y deficiencia en el crecimiento son los principales signos de alarma de OI; aunque debe considerarse que dependiendo de la edad y la severidad las manifestaciones de OI serán variables (16). Actualmente se pueden realizar pruebas como el análisis proteico y del ARN, o el análisis genómico del ADN, capaces de identificar las mutaciones genéticas y así confirmar el diagnóstico y obtener datos orientativos para el pronóstico, recurrencia, modo de herencia o respuesta al tratamiento (16, 18).

Es importante llevar a cabo un diagnóstico diferencial con desórdenes esqueléticos primarios que puedan llevar a diagnosticar erróneamente OI, denominados “Síndromes que recuerdan a la OI”, entre los que se encuentran ejemplo el Síndrome de Bruck, el síndrome de osteoporosis-linfoangioma, la displasia fibrosa panostótica, la hiperfosfatasa idiopática, la hipofosfatasa, el síndrome de Cole-Carpenter y la osteoporosis juvenil idiopática. Es importante considerar que el maltrato infantil es la causa principal de fracturas en niños menores de un año de vida, por lo que no se debe descartar ésta posibilidad (19, 29).

Las *manifestaciones esqueléticas* de la OI se corresponden con fracturas y deformidad ósea, dolor óseo, macrocefalia, facies triangular y aplanada, dentinogénesis imperfecta, deformidad en la pared torácica como pectus excavatum o carinatum, pecho en barril, escoliosis y cifosis. Además, radiográficamente con frecuencia se observa osteopenia generalizada, ápex

torácico estrecho, compresión vertebral y anomalías en la unión craneocervical (16, 18, 19, 30, 31) (Figura 4).

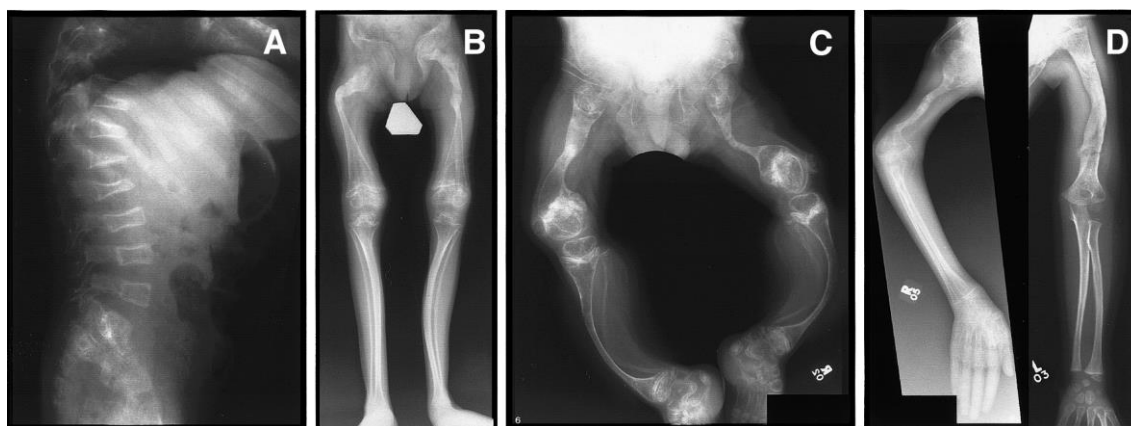


Figura 4. Radiografías de sujetos con OI. Puede observarse una espina lumbar con compresión vertebral y fracturas severas (A), extremidades inferiores con una deformidad severa de huesos largos y protrusión acetabular (B), extremidades inferiores con metáfisis distales bulbosas (C), y extremidades superiores con fracturas y deformidad ósea. Tomado de Glorieux y colaboradores (32).

Las *manifestaciones extraesqueléticas* más frecuentes son la presencia de escleróticas azuladas, pérdida auditiva temprana y función pulmonar disminuida. Además, se observan con frecuencia válvulas mitrales flexibles, regurgitación de la válvula mitral y aórtica, fístulas carótida-cavernosas y disecciones de las arterias vertebrales. La alteración de la función plaquetaria y la fragilidad vascular hace que en ocasiones el tiempo de sangrado esté prolongado. También puede observarse un estado hipermetabólico mantenido que incluye aumento de la frecuencia cardíaca y respiratoria, aumento de la temperatura corporal e intolerancia al calor (16, 18, 19).

Clasificación

Sillence y colaboradores (33) propusieron en 1979 una clasificación de la OI en 4 tipos basándose en criterios clínicos y radiográficos (Tabla 1). En esta clasificación ya se asumía la heterogeneidad de la enfermedad, y en 1984 propusieron dividir la OI tipo II en tres subcategorías dependiendo de características radiográficas.

Tipo OI	Severidad clínica	Características	Herencia
OI tipo I	Leve no deformante	Fragilidad ósea de grado variable entre leve a moderadamente severa, esclerótica azul y pérdida auditiva presenil.	Autosómica dominante
OI tipo II	Perinatal letal	Se asocia a mortalidad perinatal, fragilidad ósea extremadamente severa y costillas deformadas.	Autosómica dominante /recesiva
OI tipo III	Severamente deformante	Fragilidad ósea variable entre moderada-severa a severa, esclerótica normal, y deformidad ósea severa en huesos largos y columna vertebral. Tiene una manifestación tanto clínica como radiográfica muy variable.	Autosómica Recesiva

OI tipo IV	Moderadamente deformante	Fragilidad ósea y esclerótica normal (ligeramente azulada en la infancia), con deformidad severa de los huesos largos y la columna vertebral.	Autosómica Dominante
-------------------	--------------------------	---	----------------------

Tabla 1. Clasificación clínico-radiográfica de la OI. Tomada de Sillence (14) y Rauch y Glorieux (29).

La OI tipo IV incluía todas aquellas situaciones intermedias entre el fenotipo más leve (OI tipo I) y más severo (OI tipo III), por lo que era un grupo de gran heterogeneidad. La evidencia de fenotipos muy variables de OI, junto con el descubrimiento de nuevas mutaciones genéticas que no afectaban a los genes que codifican para las cadenas del colágeno I (34), hicieron que se describieran nuevas formas de la enfermedad. Estas nuevas formas se numeraron continuando las formas iniciales ya descritas por Sillence, y por lo tanto como OI tipo V (35), OI tipo VI (32) y OI tipo VII (36) (Tabla 2). Estos últimos tipos constituyen entidades clínicamente diferenciables de las descritas anteriormente, por lo que la clasificación de la OI seguía siendo principalmente clínica.

Tipo OI	Severidad clínica	Características	Herencia
OI tipo V	Moderadamente deformante	Dislocación de la cabeza del radio, membranas intraóseas mineralizadas, callos hiperplásicos, esclerótica normal	Autosómica dominante
OI tipo VI	Moderada a severamente deformante	Escoliosis, acumulación osteoide en tejidos óseos, patrón de laminación ósea en escamas de pescado y esclerótica normal	Autosómica recesiva
OI tipo VII	Moderadamente deformante	Fémur y húmero cortos, coxa vara, esclerótica normal	Autosómica Recesiva

Tabla 2. Clasificación de la OI extendida. Modificada de Rauch y Glorieux (29) y Glorieux (19).

Desde que en 2006 se relacionara la mutación en CRTAP como la causa genética de la OI letal autosómica recesiva (26) se descubrieron múltiples mutaciones genéticas que daban lugar a OI, por lo que la clasificación fue progresivamente ampliada para dar lugar a los nuevos tipos de OI. En esta clasificación se contemplaban factores histológicos, patrón hereditario y hallazgos genéticos, por lo que en 2009 el Grupo de Nosología de la Sociedad Internacional de Displasias Óseas (37) recomendó mantener la clasificación de Sillence para clasificar el grado de severidad de la enfermedad, ya que era mundialmente aceptada. Por ello propusieron agrupar la OI en cinco categorías clínicas, complementándola con otra lista de genes causantes de la enfermedad (Tabla 3). A su vez, se propuso una clasificación genética en la cual se mantenían los tipos de Sillence para las mutaciones colagénicas, continuándose la numeración con cada nueva mutación genética identificada (27).

Tipo OI	Patrón de herencia
I	Forma no deformante
II	Forma letal perinatal
III	Tipo progresivamente deformante
IV	Forma moderada
V	Forma con calcificación de membranas intraóseas y/o callos hipertróficos

Tabla 3. Propuesta de clasificación en 5 tipos de la OI, modificado de Warman y colaboradores (37).

Forlino y Marini establecieron en 2016 que la clasificación clínica de la enfermedad da lugar a incongruencias, ya que el sujeto podría cambiar de tipo de OI a lo largo de la vida, además de que en el mismo tipo de OI podrían coincidir pacientes con diferente tipo de herencia o mutación genética, ocasionando dificultades en el asesoramiento genético y obstaculizando la investigación de los mecanismos de la enfermedad y la respuesta terapéutica (16). Actualmente la clasificación propuesta por Forlino y Marini en 2016 (16) agrupa genéticamente los tipos de OI en 5 grupos basándose en los mecanismos metabólicos intra y extracelulares (Tabla 4), añadiendo que ésta clasificación puede ser complementada con una escala de severidad clínica (38).

	Alteración	Mutación
Grupo A	Defectos primarios en la estructura del colágeno o su procesamiento	COL1A1, COL1A2 y BMP1
Grupo B	Defectos que modifican el colágeno	CRTAP, LEPRE1, PPIB y TMEM38B
Grupo C	Defectos en el plegamiento y entrecruzamiento del colágeno	SERPINH1, FKBP10 y PLOD2
Grupo D	Defectos en la osificación o en la mineralización	IFITM5 y SERPINF1
Grupo E	Defectos en el desarrollo del osteoblasto con insuficiencia de colágeno	WNT1, CREB3L1 y SP7

Tabla 4. Propuesta de clasificación genética-funcional para la OI basada en alteraciones de los mecanismos metabólicos, adaptado de Forlino y Marini (16)

Tratamiento

El tratamiento de la OI requiere un enfoque multidisciplinar ya que estos pacientes necesitan una base de fisioterapia, rehabilitación y cirugía ortopédica, además de un tratamiento de apoyo de otras especialidades (39). El principal objetivo terapéutico es brindar las mejores capacidades funcionales posibles, en especial la movilidad, aumentando la resistencia ósea y descendiendo el número de fracturas (25, 29). A lo largo de los años se han propuesto diversos tratamientos farmacológicos para intentar fortalecer los huesos, ya que con frecuencia los programas de actividad física no son suficientes (19, 29). El tratamiento de la OI se apoya en tres pilares; la rehabilitación y terapia física, la cirugía ortopédica y el tratamiento farmacológico.

La *rehabilitación y terapia física* tiene como objetivo principal potenciar la función motora, muy importante en el desarrollo físico sobre todo durante la infancia de los pacientes con OI. Los pacientes con OI tipo I tienen una pérdida progresiva del rango de movilidad articular, especialmente en los miembros inferiores, mientras que los fenotipos más severos de OI (OI tipos III y IV) tienen limitaciones motoras más severas, pero más estables en el tiempo. Además es importante considerar que los pacientes con OI pueden tener reducida la tolerancia al ejercicio y la fuerza muscular, secundaria a problemas pulmonares y/o cardíacos lo que supone una mayor fatiga durante actividades cotidianas (15, 40).

La *cirugía ortopédica* es un tratamiento complementario a la rehabilitación física, siendo fundamental en la terapia a largo plazo de los pacientes con OI. El tratamiento quirúrgico es básico para minimizar la limitación funcional que suponen las fracturas y deformidad ósea, siendo en ocasiones imprescindible para permitir la deambulación. La cirugía permite la corrección de las deformidades espinales y de los huesos largos. Los procedimientos en los huesos largos incluyen osteotomías de los huesos largos y la colocación de clavos

intramedulares. Aunque a lo largo de los años se han utilizado diferentes sistemas de clavos intramedulares, en la actualidad se utilizan 2 sistemas de clavos telescópicos, los sistemas intramedulares telescópicos de Fassier-Duval y los clavos intramedulares telescópicos de Sheffield (15, 41-43). Estos clavos intramedulares telescópicos permiten el crecimiento en aquellos pacientes infantiles que necesitan ser intervenidos por fracturas o por deformidad ósea, permitiendo el crecimiento esquelético y ofreciendo una menor tasa de reintervención que los clavos no elongables (44) (Figura 5).



Figura 5. Antes y después del enclavamiento intramedular, tomado de Gutiérrez-Díez y colaboradores. (15)

El *tratamiento farmacológico* se basa en reducir la actividad osteoclástica y favorecer la formación ósea, ya que el mecanismo patológico de la OI incluye un aumento de la actividad de los osteoclastos y la reducción en la formación ósea (15, 29, 45).

Para la reducción de la actividad osteoclástica se utilizan bisfosfonatos e inhibidores del RANKL; y se proponen los inhibidores de Catepsina K como un futuro tratamiento (15).

- El tratamiento con bisfosfonatos es aceptado a nivel mundial debido a su facultad antirresortiva y su capacidad de disminuir el remodelado óseo. Estos fármacos, ampliamente administrados en niños con OI han mostrado efectos positivos como el aumento del número del trabeculado óseo, aumento de la densidad ósea mineral y el engrosamiento de la cortical del hueso, además de una mejoría en la geometría vertical del paciente. La desaparición del dolor óseo y la disminución de la tasa de fracturas contribuye a que estos pacientes aumenten su movilidad. El pamidronato y el zolendronato intravenosos han sido los bisfosfonatos más utilizados, y más recientemente el tratamiento oral con bisfosfonatos (15, 29, 45-47).
- Los inhibidores del RANKL están principalmente representados por Denosumab (DMAB). Denosumab es un anticuerpo monoclonal que produce la inhibición de la formación, función y supervivencia del osteoclasto, y debido a ello disminuye la resorción ósea tanto cortical como trabecular. Se ha demostrado que este fármaco mejora la densidad ósea mineral (BMD) en la espina lumbar y favorece el crecimiento vertical (48).
- Los inhibidores de la Catepsina K (CatK) como el Odanacatib se han propuesto recientemente. La CatK es una enzima expresada en los osteoclastos, con una función esencial en el remodelado óseo. La cuantificación sérica de la CatK podría

ser útil para conocer el nivel de actividad osteoclástica y así valorar el efecto del tratamiento antiosteoporótico. Sin embargo, el uso de los inhibidores de la CatK todavía no han sido estudiados en pacientes con OI (15, 49).

Para favorecer la formación ósea se ha propuesto el uso de Hormona del Crecimiento (GH), análogos de Hormona Paratiroidea (PTH), e inhibidores de la serotonina y de la esclerostina.

- La Hormona del Crecimiento (GH) se ha estudiado como un potente agente anabólico. El tratamiento con inyecciones de GH humana recombinante parece tener un efecto positivo sobre la tasa de formación ósea y el crecimiento lineal en pacientes con OI moderada, pero no en los sujetos con OI severa. Además, se estipula que el tratamiento combinado de GH con bisfosfonatos podría tener un efecto sinérgico sobre la velocidad de crecimiento y la densidad ósea mineral (BMD), pero no reduciría la tasa de fracturas. Los pocos datos clínicos de esta terapia hacen que el tratamiento con GH todavía no se encuentre en la práctica clínica habitual (49).
- La Teriparatida es un análogo de la Hormona Paratiroidea (PTH) con un gran efecto anabólico, que estimula tanto la formación como la resorción ósea dependiendo de su administración. Debido al riesgo de desarrollar osteosarcoma, la utilización de la teriparatida está totalmente contraindicada en niños. Los datos del uso de éste fármaco en pacientes adultos con OI son limitados, sin embargo parece que aunque sí son efectivos en pacientes con un fenotipo leve de la enfermedad, no lo serían para los fenotipos más severos (49).
- Los anticuerpos inhibidores de la esclerostina (Scl-Ab), inhibidores de la serotonina y los inhibidores del factor de crecimiento transformante beta (TGF-B) se han propuesto recientemente como una novedosa terapia anabólica para incrementar la masa ósea, aunque todavía se encuentra en fase experimental (15, 49).

Actualmente se están investigando nuevos tratamientos como la terapia génica, el trasplante de médula y la inhibición del gen mutado, sin embargo, se encuentran todavía en fase experimental (15, 49).

Manifestaciones craneofaciales de la Osteogénesis Imperfecta

El gran número de huesos que componen la cabeza, 8 huesos craneales y 14 huesos faciales, dan lugar a que en la región craneofacial se encuentren diversas alteraciones asociadas a la OI. Las anomalías craneofaciales más frecuentes encontradas en los sujetos con OI son (15, 18, 30, 50-53):

- Cara con forma triangular con abombamiento del hueso frontal.
- Bóveda craneal delgada, secundaria a un déficit de mineralización de la misma.
- Retraso en el cierre de las fontanelas y suturas craneales
- Formación excesiva de huesos Wormianos, es decir, huesos accesorios intrasuturales.
- Clase III esquelética, generalmente por una posición retrusiva del maxilar, en aproximadamente un 62.5% de los pacientes con OI (50).

- Disminución de la altura facial tanto anterior como posterior, indicando una falta de crecimiento vertical facial.
- Disminución de la longitud efectiva del maxilar y de la mandíbula, indicando un déficit del crecimiento facial anterior.
- Hiperdivergencia facial, con tendencia a la mordida abierta esquelética
- Anomalías en la unión craneocervical, presentes en aproximadamente un 37% de los pacientes con OI (30).

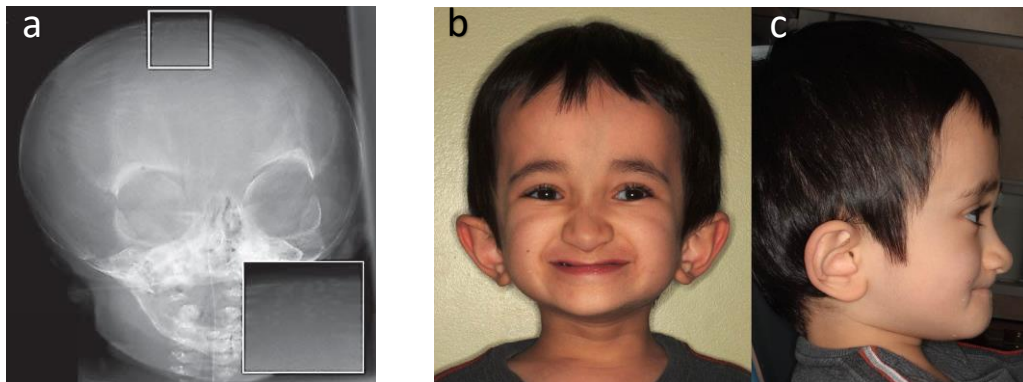


Figura 6. Radiografía frontal de cráneo en un paciente con OI tipo III, en el que se observa la presencia de huesos Wormianos y cráneo abombado (a); tomado de Van Dijk y colaboradores (51). Imagen facial frontal (b) y lateral (c) de un niño con OI tipo III en el que se observa la apariencia triangular de la cara, con abombamiento craneal, la disminución de la longitud del tercio inferior de la cara y la clase III esquelética; tomado de Retrouvey y colaboradores (53).

A nivel oral también se encuentran manifestaciones muy variadas de la OI, como son (18, 54-58):

- La Dentinogénesis Imperfecta (DGI) es el hallazgo clásico oral, expuesta en detalle en el siguiente apartado.
- Maloclusión dental
 - Mordidas abiertas anteriores y posteriores.
 - Mordidas cruzadas anteriores y posteriores.
 - Clase III molar en el de los sujetos.
- Erupción dental ectópica.
- Alteraciones en el desarrollo dental, tanto por adelanto como por retraso del mismo.
- Agenesias dentarias.
- Radiolucidez periapical.

Dentinogénesis Imperfecta tipo I

Definición

La Dentinogénesis Imperfecta (DGI) o Dentina Opalescente Hereditaria, es un defecto hereditario que afecta a la estructura y la composición de la dentina. Es una displasia localizada del mesodermo que afecta tanto a la dentición temporal como permanente, considerándose como la enfermedad genética dental más común (59-61). En 1973 Shields y colaboradores (62) propusieron clasificar los defectos hereditarios de la dentina diferenciando dos grandes grupos, las displasias de la dentina y las dentinogénesis imperfectas, que a su vez contaban con diferentes subtipos. Según esta clasificación las dentinogénesis imperfectas se subdividen en 3 grupos:

- Dentinogénesis Imperfecta tipo I, que se presenta asociada a la OI y que puede afectar ambas denticiones.
- Dentinogénesis Imperfecta tipo II, con una presentación independiente de la OI y con una afectación más severa.
- Dentinogénesis Imperfecta tipo III, o Brandywine, que se identificó en una población tri-racial aislada del sur de Maryland y Washington DC.

La DGI tipo I (DGI-I) es aquella alteración del desarrollo dentinario que se presenta asociada a la OI, siendo además un hallazgo muy frecuente en estos pacientes. La presencia de DGI-I divide a los 4 tipos de OI de la clasificación original de Sillence en dos subgrupos, A y B, dependiendo de la ausencia o presencia de DGI-I respectivamente (63).

Epidemiología

La DGI-I tiene una gran penetrancia, por lo que es una de las manifestaciones principales de la OI (61, 64). Las formas de OI que se relacionan de forma directa con mutaciones en el colágeno pueden expresar DGI-I (65).

Se calcula que la DGI-I se presenta en aproximadamente la mitad de los pacientes afectados por OI (60), aunque, como puede observarse en la Tabla 5, su incidencia difiere dependiendo de la severidad de la enfermedad sistémica, siendo más frecuente en aquellos fenotipos más graves (OI tipo III), seguidos de los moderados (OI tipo IV) y leves (OI tipo I) (64). Con frecuencia se observa que la dentición primaria está más afectada que la permanente, estimándose que en más del 80% de los pacientes en dentición temporal se encuentran afectados de DGI-I (24, 54). En un pequeño porcentaje de pacientes, aunque la dentición temporal se encuentre afectada de DGI-I, la dentición permanente se encuentra aparentemente sana, pero no es posible con los datos actuales predecir la afectación de la dentina permanente en base a la dentición temporal (24).

OI	Tipo I		Tipo III		Tipo IV		Total	
	OI (n)	DGI (%)	OI (n)	DGI (%)	OI (n)	DGI (%)	OI (n)	DGI (%)
Schwartz y Tsipouras (1984)	20	40%	7	43%	1	100%	28	43%
Lukinma, Ranta y cols. (1987)	45	9%	2	50%	16	81%	68	32%

Lund, Jensen y cols. (1998)	50	8%	16	81%	22	37%	88	28%
Petersen, Wetzel (1998)	10	90%	14	57,1%	6	50%	49	63,3%
O'Connell, Marini (1999)	-	-	22	82%	18	61%	40	73%
Lindau, Dietz y cols. (1999)	8	37,5%	2	50%	5	100%	15	60%
Malmgrem y Norgren (2002)	36	28%	15	67%	14	50%	65	42%
Malmgrem, Lindskog (2003)	25	28%	7	71,43%	8	50%	49	40%
Majorana, Bardellini y cols. (2010)	9	44,4%	3	100%	4	75%	16	62,5%
Lindahl, Åström y cols. (2015)	151	13%	29	58%	42	43%	222	25%
Lin, Chuang y cols. (2015)	42	31%	5	80%	25	56%	72	43%
Binh, Ho Duy y cols. (2017)	21	45,65%	34	73,91%	34	62,96%	89	60,96%
Thuesen y cols. (2018)	55	1,8%	6	83,3%	12	100%	91	38,46%

Tabla 5. Diferentes prevalencias de la DGI-I con respecto el tipo de OI según diversos autores (24, 54, 64, 66-75).

Etiología

Debido a que la DGI-I es la forma sindrómica de la DGI que se presenta en asociación con la OI, la etiología de estas dos enfermedades está íntimamente relacionada. Al igual que en la OI, la DGI-I se debe en la mayoría de los casos a mutaciones en los genes que codifican para el colágeno I (COL1A1 y COL1A2) (76), siendo incluso uno de los factores de mayor penetrancia de la OI (61).

Tras estudiar el efecto de la mutación del colágeno en los fibroblastos, Hall y colaboradores (77), hipotetizan que los odontoblastos son disfuncionales desde el comienzo, produciéndose un acumulo intracelular de procolágeno anormal y productos de degradación que da lugar a dilataciones de los odontoblastos. La matriz anormal que ha sido secretada se mineraliza, rodeando al odontoblasto y a su proceso odontoblástico, impidiendo la secreción futura de colágeno y produciendo inmovilización celular. Con la apoptosis o necrosis de los odontoblastos disfuncionales se produce la diferenciación de poblaciones celulares mesenquimatosas indiferenciadas de la pulpa, que se convierten en células similares a odontoblastos, “odontoblastlike”, por metaplasia. Estas nuevas células similares a odontoblastos comienzan la deposición y mineralización de una nueva matriz intercelular de forma descontrolada, que ocasiona una disposición desordenada de la dentina, dando lugar a una obliteración pulpar progresiva y rápida por excesivo depósito de dentina atípica.

Diagnóstico

El diagnóstico inicial de la DGI-I se basa en los hallazgos clínico-radiográficos, siendo la discoloración y la obliteración pulpar las principales características de esta enfermedad (64). Estos pacientes presentan, además de la alteración del color dental, una evidente atrición secundaria a la pérdida de esmalte, que está sostenido sobre dentina anómala. Los dientes de estos pacientes suelen tener un aspecto translúcido y ambarino, aunque la discoloración oscila entre tonalidades amarillo-marrones, la más frecuente, y azul opalescente. No se ha encontrado relación entre la alteración del color dental y la severidad de la OI, mientras que sí que se ha encontrado relevante la relación entre la presencia de discoloración dentaria y una mayor tasa de abrasión, sobre todo en aquellos dientes con discoloración amarillo-marrón. En los casos más severos de la enfermedad, la atrición severa da lugar a una pérdida de dimensión vertical que repercute de forma negativa en la articulación temporomandibular (ATM) (24, 66, 76, 78, 79). El esmalte se ha descrito tradicionalmente como normal, aunque también hay estudios que

indican que en un tercio de los pacientes con DGI-I se observan hipocalcificaciones o hipomineralizaciones del esmalte (80).

Radiográficamente, las anomalías más representativas de la DGI-I son una rápida obliteración pulpar secundaria a un proceso de hipertrofia dentinaria con un gran depósito de dentina desestructurada, extensiones de la cámara pulpar, angulación radicular atípica y una constricción cervical más acentuada de lo normal, que da lugar al aspecto característico de coronas bulbosas. De forma menos frecuente se reporta hipodoncia, lesiones periapicales, dentículos y supernumerarios (24, 66).

Los hallazgos ultraestructurales de los dientes con DGI-I han sido estudiados en tres tejidos distintos; esmalte, dentina y UAD. El esmalte parece tener una estructura histológica normal, aunque es frecuente encontrar fracturas o desprendimientos del esmalte, ya que está soportado por una dentina anómala (78). Sin embargo, algunos estudios determinan que el esmalte primario tiene una mineralización más irregular, sobre todo en casos con manifestaciones clínicas patológicas (69). Las discrepancias entre los estudios con respecto a la afectación de la UAD hacen que su alteración no esté tipificada; mientras algunos autores establecen que la unión entre el esmalte y la dentina es normal tanto en función como en estructura (24, 77, 78), otros afirman que aparece aplanada (81) o parcialmente aplanada (82). La dentina es donde se encuentran las mayores alteraciones morfológicas estructurales. El análisis morfológico ultraestructural (24, 69, 70, 78, 81) pone en evidencia la irregularidad de los túbulos dentinarios, observándose tanto túbulos gigantes como obliterados, y áreas circulares de matriz sin calcificar.

La relación entre los signos de DGI es compleja, ya que se ha observado que dientes de pacientes con OI que aparentemente no tienen alteraciones clínicas presentan anomalías radiográficas, y que dientes que muestran ligeros cambios radiográficos pueden mostrar un amplio abanico de síntomas clínicos (66). Del mismo modo, dientes aparentemente normales a exploración clínica pueden presentar anomalías estructurales examinados microscópicamente (70, 81), por lo que debería considerarse que todos los dientes de sujetos con OI pueden presentar anomalías estructurales dentarias, aunque no se manifiesten a nivel clínico-radiográfico. La dentina de manto parece presentar mayores manifestaciones de displasia al aumentar la severidad de la OI (70).

Con respecto a la relación entre la afectación dental (DGI-I) y sistémica (OI), la función del colágeno no es la misma en el hueso y en la dentina, por lo que la presentación y la severidad de la afectación ósea y dentinaria es muy variable (54). Se ha observado una mayor tendencia a desarrollar deformidad ósea y escoliosis en los pacientes con DGI clínica (64). Además, parece que las alteraciones dentales son más frecuentes en los pacientes con una tasa de fracturas más elevada, aunque no es posible establecer a día de hoy que la presencia de DGI clínica aumente el riesgo de fracturas (66). La relación entre las diferencias histológicas dentarias y la severidad sistémica de OI tampoco parece estar clara, ya que aunque algunos autores establecen que no se encuentran diferencias morfológicas dentarias entre los diferentes tipos de OI (24), otros observan anomalías estructurales dentarias más frecuentes y marcadas en los pacientes con un grado más severo de la enfermedad sistémica (OI) (69). En un reciente estudio (75) llevado a cabo en pacientes adultos se ha encontrado relación entre los hallazgos clínico-radiográficos y la severidad de la OI, encontrándose anomalías más frecuentemente en los pacientes con un fenotipo más severo de OI.

Tratamiento odontológico en la Osteogénesis Imperfecta

Debido a que con frecuencia los sujetos con OI presentan alteraciones en el sistema estomatognático como anomalías dentarias, problemas en la ATM y maloclusión, entre otras, se recomienda que acudan al odontólogo desde el momento de la erupción dentaria para asesoramiento odontológico y evaluación de la patología oral, si existiera. Aunque el manejo clínico de estos pacientes dependerá de la severidad de la afectación clínica, el adecuado tratamiento bucodental incluirá la prevención de maloclusiones y atrición dentinaria severa, rehabilitando la dentición ortodóncica o protésicamente una vez se haya desarrollado patología, con el objetivo de optimizar la funcionalidad y la estética; y en todo momento previniendo la enfermedad periodontal y la caries. Debido a la fragilidad esquelética de los pacientes con OI el profesional deberá de ser cuidadoso, siendo precavido y evitando procedimientos que transmitan grandes fuerzas a los huesos maxilares o movimientos bruscos que pudieran producir fracturas óseas, recomendándose en casos severos la utilización de algún tipo de estabilización protectora durante los tratamientos. A su vez, debido al alto riesgo que tienen los sujetos con OI a desarrollar alergia al látex, es importante determinar la presencia de alergias o hipersensibilidad al látex o derivados (54, 83, 84).

Actualmente la tendencia terapéutica (80) es la evaluación temprana de estos pacientes, ya que así pueden evitarse o interceptarse posibles problemas graves como la pérdida de dimensión vertical, los problemas articulares y la pérdida de longitud de arcada. Sin embargo, es importante considerar que el tratamiento excesivamente temprano con frecuencia supone un elevado coste, una escasa colaboración del paciente que puede llevar a requerir anestesia general y problemas técnicos al restaurar dientes con coronas clínicas mínimas y cámaras pulpares muy amplias.

Los objetivos del tratamiento temprano son:

- Mantener la salud oral y preservar la vitalidad, forma y tamaño de los dientes.
- Aportar una estética adecuada que evite problemas psicológicos añadidos.
- Proveer una dentición funcional.
- Prevenir la pérdida de dimensión vertical.
- Mantener la longitud de arcada
- Evitar problemas durante el recambio dentario y la erupción de la dentición permanente.
- Permitir un desarrollo adecuado de los huesos faciales y de la ATM.
- Establecer una relación de confianza con el paciente y la familia, para poder asesorarles acerca de la situación actual de salud bucodental y las posibilidades terapéuticas.

Las necesidades terapéuticas y la severidad de la afectación clínica son los determinantes principales que se deben valorar para el inicio del tratamiento odontológico de los pacientes con OI. Así, Shapira (80) propone que en los casos en los que la DGI-I tiene una afectación clínica muy severa el tratamiento se efectúe en dos fases; una primera tan temprana como sea posible, en torno a los 18-20 meses de vida, cuyo objetivo es la protección de los incisivos y los primeros molares temporales, y una segunda fase, en torno a los 28-30 meses de vida para proteger los segundos molares y los caninos. En los casos menos severos puede hacerse el tratamiento en solamente una fase, o postponerlo adaptándolo a las necesidades individuales de tratamiento. En todos los casos, es de vital importancia llevar a cabo un íntimo

seguimiento encaminado a detectar e interceptar complicaciones, ya sean derivadas del tratamiento odontológico o secundarias a las alteraciones dentarias y sistémicas.

La rehabilitación oral completa de los pacientes con OI es complicada, ya que implica la participación de un equipo multidisciplinar, en el que con frecuencia están involucrados un odontopediatra, un cirujano, un ortodoncista y un prostodoncista. El enfoque terapéutico siempre tendrá base preventiva con el objetivo de evitar las consecuencias funcionales de la DGI-I (83, 85).

El *tratamiento preventivo* es la base terapéutica del tratamiento odontológico, por lo que debe estar presente en todo momento. En el plan de tratamiento se incluirá la enseñanza en técnicas de higiene oral y asesoramiento dietético, potenciando al máximo las medidas de higiene oral. Es de gran importancia que los niños con DGI-I sean examinados periódicamente, llevándose a cabo tratamientos preventivos como selladores de fosas y fisuras, y fluorizaciones tópicas, y evaluando si se están produciendo cambios nocivos en la región bucofacial (86, 87).

El *tratamiento restaurador* es efectivo en los casos de DGI-I leve o moderada. En aquellos casos en los que la afectación clínica es severa, el tratamiento restaurador estará encaminado a preservar la estructura remanente para que sirva de base en el futuro tratamiento prostodóncico (85). Actualmente la gran mayoría de los tratamientos restauradores en la odontología actual se basan en técnicas adhesivas, las cuáles dependen en gran manera del sustrato dental. Los dientes con DGI-I, como ya hemos visto, tienen alteraciones notables en la morfología tisular dentaria, por lo tanto, es de esperar que la adhesión con los materiales dentales se presente alterada. A pesar de esto, algunos autores establecen que la odontología adhesiva no está contraindicada en los pacientes con DGI, ya que aunque no se conoce mucho sobre la efectividad de los agentes de adhesión en dentina en los dientes afectados de DGI, parece que el éxito de las restauraciones directas o indirectas adhesivas resulta de la unión esmalte-composite, y no tan tanto de la adhesión dentina-composite (54, 88).

La rápida obliteración de los conductos pupares y la presencia de raíces estrechas formadas por una dentina más frágil puede hacer que el tratamiento endodóntico se complica, ya que aumenta el riesgo de perforación lateral y fracturas radiculares durante la instrumentación (83). Algunos autores (89) establecen que en algunos casos, debido a la complejidad del tratamiento endodóntico en este tipo de pacientes, incluso es aconsejable llevar a cabo endodoncias profilácticas en aquellos dientes con severas alteraciones del material dental, ya que pueden ser esenciales en el tratamiento posterior. En aquellos dientes que desarrollen una obliteración pulpar total de los conductos pulpares se requerirá tratamiento quirúrgico para la eliminación de la lesión periapical y el mantenimiento del diente. Debido al riesgo de presentar abscesos periapicales se recomienda hacer pruebas radiográficas de rutina periódicamente en pacientes con OI.

En relación con el *tratamiento estético*, se han descrito casos de blanqueamientos en pacientes con DGI, teniendo un resultado exitoso (90).

Con respecto al *tratamiento prostodóncico* se han descrito diversas opciones terapéuticas, siendo el objetivo común de todas ellas el proteger al máximo la estructura dentaria, aportando una dimensión vertical y posición mandibular adecuadas, asegurando una función masticatoria adecuada (85). En dientes temporales o permanentes jóvenes, en dónde la estética no es el objetivo primordial, se pueden utilizar coronas de acero preformadas para prevenir la atrición y mantener la estructura dentaria en los sectores posteriores (59). En pacientes en dentición permanente se ha descrito como tratamiento prostodóncico el uso de

prótesis parciales removibles o fijas, prótesis completas y sobredentaduras (91-93). Las sobredentaduras se proponen como un tratamiento temporal adecuado en los pacientes infantiles con DGI-I severa hasta que finalice el crecimiento y se instaure una solución protésica más duradera, ya que permiten mantener los dientes el mayor tiempo posible aportando una adecuada estética, recuperando la dimensión vertical y manteniendo las dimensiones de las arcadas dentarias (86, 94). Sin embargo, las sobredentaduras son móviles y carecen de retención, lo cual hace que la aceptación del paciente no siempre sea buena; por ello también se propone el tratamiento mediante prótesis fija sobre perno-muñones colados metálicos, aunque aumenten el riesgo de fracturas dentarias y sean difíciles de retirar para instaurar el tratamiento definitivo (85).

La gran frecuencia con la que los pacientes con OI desarrollan maloclusiones como clase III esquelética, mordidas abiertas, mordidas cruzadas y ausencias dentarias les hace candidatos al *tratamiento ortodóncico*, muchas veces de inicio temprano (57). La ortodoncia convencional ofrece un resultado exitoso en pacientes con DGI-I, consiguiéndose una adecuada adhesión de los brackets y bandas (27, 95). Algunos estudios recomiendan mantener el periodo de tratamiento activo lo más corto posible y las fuerzas ortodóncicas excesivas, ya que aunque la tasa de movimiento dentario es normal, hay un riesgo aumentado tanto de reabsorción como de fractura radicular (86, 96).

Es relativamente frecuente que sea necesario incluir una *fase quirúrgica* en el tratamiento bucodental de los pacientes con DGI, principalmente debido a la severidad de la maloclusión, erupción dental ectópica o presencia de lesiones periapicales. En las últimas décadas se ha propuesto la utilización de técnicas de cirugía avanzadas como la osteodistracción, injertos óseos, elevaciones de seno maxilar e implantes dentales en pacientes con OI, con resultados exitosos (93, 97-100). En el manejo quirúrgico y anestésico de los pacientes con OI hay que tener en cuenta la facilidad de ocasionar fracturas óseas y dentarias, la existencia de una tendencia aumentada al sangrado secundaria a desórdenes plaquetarios y/o vasculares, una mayor predisposición a desarrollar hipertermia maligna y la dificultad de intubación de algunos pacientes (101).

ANTECEDENTES_

Alteraciones en la ultraestructura dentaria en sujetos con Osteogénesis Imperfecta

La OI es una enfermedad genética hereditaria que se produce por alteraciones asociadas al colágeno tipo I (16). El colágeno tipo I está presente en estructuras y tejidos que tienen su origen en el mesénquima embrionario, como son dermis, tendones, huesos, ligamentos, fascias, cartílagos fibroso, córnea y tejido conectivo laxo (18, 19). A nivel dental, las principales anomalías se producen en la dentina, ya que deriva del mesodermo, aunque también se encuentran alteraciones en el esmalte, que deriva del ectodermo, y en la unión entre el esmalte y la dentina. Para el análisis de las características ultraestructurales dentarias, resulta útil dividir los hallazgos en las tres estructuras dentarias más estudiadas, es decir, esmalte, dentina y UAD.

El *esmalte* ha sido poco estudiado, ya que los estudios en pacientes con OI se han centrado principalmente en estructuras que derivan del mesodermo. Tradicionalmente se establecía que el esmalte tiene una estructura histológica normal, aunque tiende a fracturarse o desprenderse de la dentina anómala (78, 81). Lindau y colaboradores (82), sin embargo, establecen que se encuentran algunas alteraciones en el esmalte de sujetos con OI, hipotetizando que probablemente se deban a interacciones entre el mesodermo y el ectodermo durante la amelogénesis que ocasionen daños en el esmalte. Los autores establecieron que el esmalte tiene una mineralización más irregular, sobre todo en dientes temporales y en la región más cercana a la UAD, sin existir correlación con el tipo de OI, pero siendo más evidentes en casos de DGI clínica. Hall y colaboradores (77) describen la presencia de laminillas de esmalte rotas, aunque la apariencia primera del esmalte era aparentemente normal.

La *unión amelodentinaria (UAD)* ha sido ampliamente estudiada, sin embargo no se ha llegado a un consenso; mientras que algunos autores establecen que es funcional y estructuralmente normal (24, 77, 78), otros estipulan que aparece aplanada (81). Lindau y colaboradores (82) determinaron con MEB que la UAD tiene un aspecto festoneado en algunas zonas (principalmente en la mitad inferior de las áreas proximales) mientras que en otras se presentaba aplanado; siendo más frecuente encontrar un aspecto liso, por lo que podría definirse como parcialmente festoneado. Además, encontraron relación entre la UAD y la alteración del esmalte; cuando la UAD era ondulada los prismas del esmalte se presentaban más irregulares que cuando esta era lisa.

La *dentina* es donde se encuentran los mayores signos de anomalía estructural. Se han observado cambios displásicos en la dentina de sujetos con OI pero que no manifiestan DGI clínicamente (70), por lo que se deduce que los cambios displásicos, aunque son más evidentes y severos en aquellos dientes que presentan DGI clínica, están también presentes en aquellos que no; por lo tanto estos cambios displásicos en relación con la OI deben de ser considerados, aunque no sean diagnosticados como DGI clínica. Histológicamente (24, 69, 78, 81), los túbulos dentinarios son irregulares y se observan tanto túbulos gigantes como obliterados, y áreas circulares de matriz sin calcificar. La dentina de los dientes temporales, más afectada, presenta una apariencia en forma de abanico, mientras que en los dientes permanentes la distribución irregular de los túbulos dentinarios les da una imagen laminar. La dentina de manto, aunque habitualmente se ha descrito como normal, presenta las mismas anomalías que otras capas más afectadas, pero más levemente; además se ha observado que las manifestaciones de displasia en la dentina del manto aumentan con la severidad de la OI (70). La dentina del manto se continúa con una banda de dentina con túbulos aparentemente normales, que termina

abruptamente en un área ondulada paralela a UAD con túbulos ocluidos por cristales orientados aleatoriamente. Posteriormente se encuentra una zona heterogénea, relativamente lineal, con anchas estructuras similares a canales, canales con procesos retrocurvados y dilatados. Aunque algunos autores establecen que no se encuentran diferencias histológicas dentarias entre los diferentes tipos de OI (24), Lindau (69) establece que sí que hay diferencias morfológicas de la dentina, habiendo hallazgos más frecuentes y marcados en los pacientes con OI tipo III y IV que en los de tipo I.

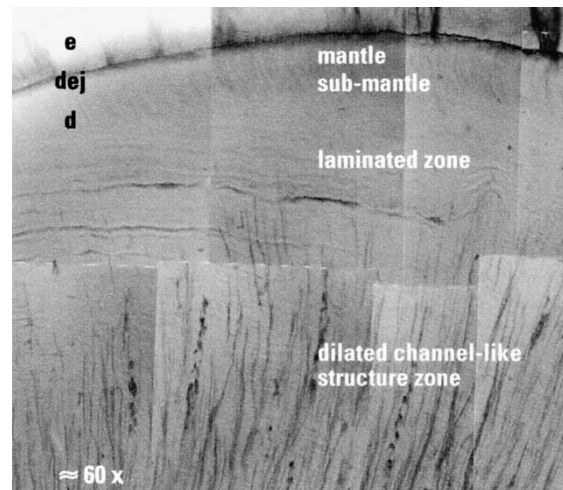


Figura 7. Montaje de imágenes de microscopía óptica de un paciente con OI, mostrando los principales hallazgos ultraestructurales de la DGI, desde la UAD hasta el tejido pulpar. La dentina de manto y submanto presenta anomalías similares a las capas inferiores, pero menos evidente, continuándose con una región de túbulos aparentemente normales que da lugar a una región con túbulos obliterados; a partir de ese punto se encuentran estructuras similares a túbulos dilatados y canales con procesos retrocurvados. Tomado de Hall y colaboradores (77).

El *cemento dentario* ha sido poco estudiado en los sujetos con OI. Algunos autores describen la presencia de mineralizaciones ectópicas (102); otros autores, sin embargo, establecen que no se encuentran diferencias entre el cemento de sujetos con OI y sujetos sanos (81).

La relación entre las alteraciones histológicas estructurales y las manifestaciones clínico-radiológicas es incierta, ya que se ha observado que pueden presentarse independientemente, de forma que un diente aparentemente sano a exploración clínica puede presentar anomalías radiográficas y/o ultraestructurales (66, 70, 81). Por ello, debe considerarse que todos los dientes de sujetos con OI pueden presentar DGI-I, ya que es probable que, aunque no se observen alteraciones clínicas o radiográficas aparentes, presenten anomalías estructurales dentarias.

Antecedentes bibliográficos más importantes

Algunos autores ya han estudiado ultraestructuralmente los tejidos dentarios de sujetos con OI, entre ellos destacan los referidos a continuación.

Takagi y colaboradores (103) analizaron con electromicroscopía dientes temporales de dos pacientes con OI, encontrando alteraciones estructurales como una pérdida de la estriación de las fibras colágenas y una disminución en la densidad cristalina en comparación con dientes control. Levin y colaboradores (104) analizaron con MEB 25 dientes, temporales y permanentes, de sujetos con OI dominante, determinando que no se encontraban alteraciones en la superficie y estructura del esmalte. Además, determinaron que en aquellos dientes de apariencia clínica normal no se encontraban alteraciones en la distribución tubular, mientras que en los dientes clínicamente alterados se observaba una disminución en el número de túbulos dentinarios, que además se presentaban estrechos y con un camino tortuoso. El frente de calcificación en la dentina, mientras que en los dientes clínicamente no alterados se observaba compuesto por múltiples nódulos de calcificación distribuidos de forma regular, en los dientes con alteraciones clínicas aparecían nódulos de un tamaño disminuido con una disposición irregular.

Waltimo (105) estudió con microscopía electrónica de transmisión (MET) seis incisivos temporales de un sujeto con OI tipo IV, y un incisivo de un sujeto con OI tipo I. Encontró que la ultraestructura dentinaria presentaba gran heterogeneidad, con zonas aparentemente normales y zonas con dentina aberrante. Los túbulos se encontraban obliterados por acúmulo de sustancia amorfa granular en su interior y las fibras colágenas se encontraban aleatoriamente distribuidas entre los túbulos. Además, los túbulos presentaban formas anómalas, con inclusiones de las fibras colágenas en su interior. Se encontraron áreas similares a vesículas de 100-830 μm de diámetro rodeadas por una membrana trilaminar y de contenido granular. En un sujeto con OI tipo I se encontraban zonas de menor densidad que contenían fibras colágenas de 300 μm de diámetro (hiperfibras), además de contenido granular, además también se encontraban vesículas. Este mismo autor (106) describió que existe una reactividad incrementada al colágeno tipo III (minoritaria en dentina normal) y presencia de colágeno tipo VI (no presente en dientes normales) en dientes con DGI-I. Posteriormente, en otro estudio (107) analizó los dientes de 3 sujetos con DGI-I explorados mediante MO y MET, describiendo la alternancia de zonas de dentina aparentemente normal y zonas de dentina anómala; en la zona de dentina aberrante observó la presencia de túbulos dentinarios con alteración de su tamaño, encontrando tanto túbulos reducidos en tamaño y número, como túbulos gigantes o estructuras similares a canales.

Lygidakis y colaboradores (81) analizaron mediante microscopía MEB 12 dientes afectados clínica y radiográficamente de DGI-I de pacientes con OI tipo I en comparación con 14 dientes de sujetos con OI pero sin DGI-I, y con sujetos control. No encontraron diferencias en el esmalte entre los tres grupos de estudio. A nivel de la dentina, describieron una reducción significativa en la cantidad y tamaño de los túbulos dentinarios, muchos obliterados por material probablemente derivado de una mineralización secundaria, encontrando tanto túbulos con un diámetro inferior a 1 μm como túbulos gigantes, con recorridos tortuosos y una distribución irregular en la dentina. Los autores establecieron que los canales amplios son derivados de invaginaciones pulpaes en la dentina. En la dentina de manto encontraron las mismas alteraciones, pero menos marcadas que en otros puntos de la dentina. La UAD de los dientes con DGI-I se presentaba lisa, sin ondulación, y más delgada. Además, determinaron que en

dientes que clínica y radiográficamente parecen no padecer DGI-I pueden observarse alteraciones ultraestructurales (Figura 8).

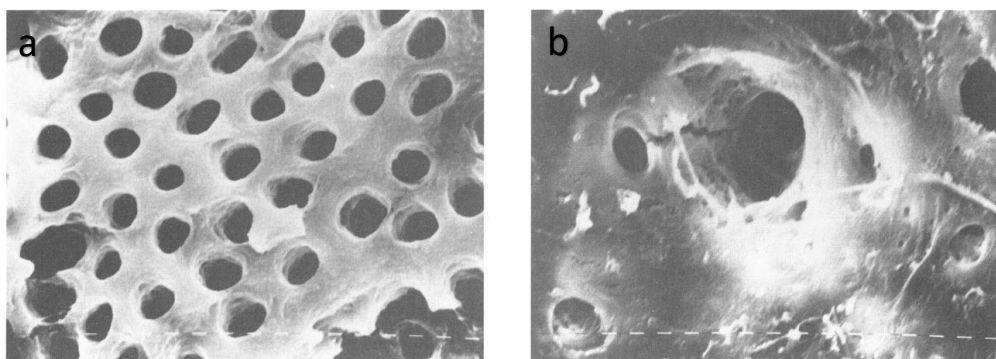


Figura 8. Sección transversal con MEB con una magnificación original de x3200. (a) Dentina de un molar de un paciente control, con homogeneidad tanto en el diámetro como en la dirección de los túbulos dentinarios. (b) Dentina de un molar de un paciente con DGI-I, presentando variables diámetros tubulares. Tomado de Lygidakis y colaboradores (81).

Lindau y colaboradores (82) estudiaron dientes de 15 sujetos con OI en comparación con un grupo control, seccionando los dientes en sentido bucolingual, longitudinalmente, y posteriormente observados mediante MO y MEB, observando el esmalte y la UAD. En la dentición permanente encontraron pocos cambios a nivel del esmalte, sin embargo, en la dentición temporal encontraron que el esmalte estaba mineralizado de forma más irregular, especialmente en casos con DGI-I. No se encontraron diferencias en cuanto a la afectación del esmalte en los tres tipos de OI. A nivel de la UAD se encontraron más alteraciones en el grupo con OI frente al grupo control, sobre todo en la dentición temporal ya que se presentaba sin ondulación (Figura 9). En otro estudio, los mismos autores (69) estudiaron la dentina de 15 sujetos con OI. Describieron que los hallazgos más frecuentes fueron túbulos irregulares, remanentes de inclusiones capilares, obliteraciones pulpares, y una UAD parcialmente ondulada. Además, aunque los tres tipos de OI presentaban anomalías similares, los pacientes con OI tipo III o IV tenían una mayor frecuencia de aberraciones, en comparación con la OI tipo I.

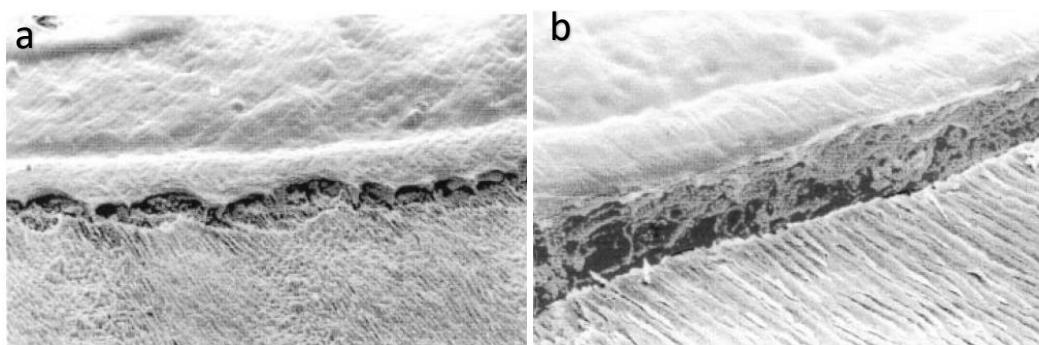


Figura 9. Imagen de dientes permanentes de sujetos con OI analizados con SEM. UAD con aspecto festoneado y patrón irregular del esmalte, a 300 aumentos (a) y UAD lisa con patrón de esmalte regular, a 500 aumentos (b). Tomado de Lindau y colaboradores (82).

Hall y colaboradores (77) estudiaron la ultraestructura de dientes temporales de 8 niños con OI mediante MO, MET y MEB, para ello seccionaron los dientes en sentido bucolingual longitudinalmente. Lo autores observaron una apariencia anómala de la dentina en todos los sujetos de estudio. El esmalte era aparentemente normal, aunque se encuentran algunas laminillas rotas, además, la UAD aparecía con la ondulación normal. Describen la presencia de dentina de manto aparentemente normal (10-15 μm) continuada de una banda de túbulos aparentemente normales (30-50 μm) que termina de forma abrupta en una zona ondulada y laminada de aproximadamente 100 μm paralela a la UAD, con túbulos ocluidos por cristales orientados de forma aleatoria. Bajo esta zona se encontraron estructuras dilatadas similares a canales (*"Channel-like"*) de 5-10 μm de diámetro perpendiculares a la UAD, que con frecuencia albergaban uno o más procesos odontoblásticos dilatados o alargados en su interior, o posiblemente el mismo proceso odontoblástico retrocurvado y cortado dos veces. Además, se encuentran numerosas estructuras dilatadas y retrocurvadas en la capa laminar.

Malmgren y Lindskog (70) estudiaron con microscopía de luz polarizada 42 dientes temporales y permanentes de 40 sujetos con OI. Los hallazgos fueron coincidentes con los descritos por otros autores previamente, caracterizándose por variaciones en el tamaño y dirección de los túbulos dentarios, más evidentes en la dentina circumpulpar que en la dentina de manto, observándose tanto a nivel coronal como radicular. Los autores clasificaron los dientes en 4 categorías en base a una Escala Clínico Radiográfica creada previamente en la que clasificaban los dientes dependiendo de si presentaban anomalías clínicas y/o radiográficas evidentes. Además, dependiendo de los hallazgos ultraestructurales dentinarios, clasificaron los dientes en base a una Escala de Dentina Displásica propuesta por los autores. Sus hallazgos indicaron que las variaciones estructurales intrasujeto eran mínimas, que si la afectación de la dentina coronal y radicular difería la afectación de la raíz era mayor, que la alteración estructural de la dentina era mayor en la dentina circumpulpar que en la dentina de manto, que la displasia dentinal era mayor en algunos pacientes que carecían de signos clínicos y/o radiográficos de DGI-I, que la displasia de la dentina variaba con respecto al tipo y forma de OI y que se encuentra una relación significativa entre la displasia dentinal y la Escala Clínico Radiográfica de afectación.

De Coster y colaboradores (108) estudiaron la estructura anómala de la dentina en pacientes con desórdenes del colágeno tipo I, entre los que se encontraban dientes permanentes de 4 pacientes con OI (tipos III y IV). Observaron la ultraestructura mediante MO y MET. Sus hallazgos indican que existe una capa de dentina del manto aparentemente normal de 10-15 μm , que se continua con una franja de túbulos aparentemente normales de la capa de dentina submanto (20-40 μm); la zona aparentemente normal termina de forma abrupta en una zona ondulada (80-120 μm) paralela a la UAD, en donde algunos de los túbulos presentes estaban obliterados por sustancia amorfa fibrosa. Debajo de esa zona se encuentra otra región en la cual se encuentran áreas de dentina con túbulos normales y zonas atubulares; además de estructuras similares a canales de gran tamaño (15-25 μm) perpendiculares a la UAD y que presentan uno o más procesos odontoblásticos en su interior. Además, en las zonas aberrantes los túbulos apenas eran distinguibles de la matriz dentinaria, y en muchos casos se encontraban fibras de colágeno acortadas que frecuentemente se introducían en los túbulos o canales.

Majorana y colaboradores (24) estudiaron 16 niños con OI a nivel clínico, radiográfico e histológico. Describen la que tanto el esmalte como la UAD eran anatómicamente normales. Con respecto a la dentina, la región de dentina de manto (10-15 μm) y la capa de dentina tubular subyacente (30-50 μm) se mostraban normales, pero a partir de entonces aparecía un área laminada (100 μm) paralela a la UAD con túbulos obliterados por cristales orientados

aleatoriamente, tras la cual aparecían estructuras similares a canales (5-10 μm de diámetro). Estas estructuras aparecían de forma lineal en matriz mineralizada y con frecuencia albergaban uno o más procesos odontoblásticos dilatados o retrocurvados en el centro del canal. Además, la dentina se observaba menos mineralizada, posiblemente por la presencia de una cantidad mayor de colágeno tipo III que podría ser un obstáculo para la mineralización dentinaria.

Kantaputra y colaboradores (102) analizaron con MEB incisivos temporales de un sujeto con OI y que presentaba DGI clínica, e incisivos temporales de un sujeto con OI pero que no presentaba clínicamente DGI. Los hallazgos indicaron la presencia de mineralizaciones ectópicas a nivel tanto de la dentina como del cemento dentinario. Además, describen que la presencia de túbulos dentinarios se encontraba reducida. Asocian la existencia de mineralización ectópica por la presencia de una copolimerización del colágeno normal y anómalo, que ocasiona una morfología distorsionada de las fibras colágenas, un retraso en la formación de la estructura fibrilar y una menor incorporación de colágeno a la estructura de las fibras.

JUSTIFICACIÓN

La OI es una enfermedad sistémica ocasionada por alteraciones en la estructura y/o el metabolismo del colágeno tipo I. La alteración hereditaria de la dentina asociada a la OI se denomina DGI-I, siguiendo la clasificación de Shields (62). Las manifestaciones en la estructura dental se corresponden principalmente con alteraciones en la dentina, aunque también se observan hallazgos patológicos a nivel del esmalte y la UAD. Al estar relacionada la afectación dental con la sistémica, el mecanismo etiopatológico de la DGI-I se corresponde con el de la OI, y, por lo tanto, con alteraciones cualitativas y/o cuantitativas del colágeno I.

Desde la descripción de la OI como entidad patológica propia se han llevado a cabo estudios (24, 69, 70, 78, 81, 82, 102) que describen y analizan histomorfológicamente las alteraciones a nivel dental. De forma general, los dientes presentan pocas alteraciones del esmalte (mineralización más irregular) encontrándose las mayores alteraciones en la dentina (pérdida del patrón tubular, irregularidades en el diámetro y dirección de los túbulos dentinarios, presencia de estructuras anómalas en la dentina. Además, se describe que en algunos casos existe una unión anómala entre el esmalte y la dentina.

El trastorno estructural de la dentina se manifiesta mediante hallazgos muy heterogéneos a nivel clínico y radiográfico (24, 66, 76, 78, 79), caracterizándose por una gran variabilidad tanto en su presentación como en su severidad. Las características clínico-radiográficas más frecuentes son la alteración del color dental, aspecto de coronas bulbosas, rápida atrición o fractura del esmalte, alteración de la formación radicular y obliteración de la cavidad pulpar.

No ha sido posible establecer una relación entre la alteración estructural dentaria y las manifestaciones clínicas y radiográficas, ya que se describe que dientes aparentemente sin alteraciones clínicas pueden presentar cambios patológicos radiográficos y de la misma forma, dientes que aparentemente no presentaban DGI-I han mostrado anomalías ultraestructurales dentarias al ser observados con microscopía (66, 70, 81).

La función del colágeno I no es la misma en el hueso y en la dentina, y por lo tanto, la presentación y la severidad de la afectación ósea y dentinaria es muy variable, debido a ello, no se ha llegado a establecer una relación certera entre la afectación dental (DGI-I) y sistémica (OI) (24, 54). A pesar de no poder establecerse un patrón de asociación entre la afectación dentaria y sistémica, algunos autores describen que la manifestación clínica de DGI-I se asocia con una mayor tendencia a fracturas y deformidad ósea (64, 66), y que las alteraciones dentarias son más frecuentes y severas en los pacientes con un fenotipo más grave de OI (69).

Debido a la presencia de manifestaciones de DGI-I a nivel clínico, radiográfico y/o ultraestructural, los criterios diagnósticos de la DGI-I han variado con el paso del tiempo, aunque son principalmente clínico-radiográficos. Además, actualmente se disponen de métodos avanzados de microscopía y análisis de imagen que permiten un mejor estudio de las muestras, y por lo tanto un mejor conocimiento de la fisiopatología de la afectación dental. Debido al avance científico desde la definición inicial de DGI-I, y la evidencia de que dientes aparentemente sanos presentan alteraciones morfológicas ultraestructurales, es evidente la necesidad de un estudio protocolizado que analice las características de la afectación dentaria de los sujetos con OI, aportando una definición adecuada de la DGI-I, la cual facilite la comunicación interprofesional, así como el manejo clínico de estos pacientes.

HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS_

Hipótesis de trabajo

La *hipótesis nula de trabajo* implica la ausencia de características ultraestructurales específicas a nivel del esmalte, la dentina, y la unión amelodentinaria en dientes temporales de sujetos con OI en comparación con sujetos controles no afectados. Además, no es posible establecer que los cambios morfológicos ultraestructurales estén relacionados con la afectación clínica y radiográfica observada en la dentición de estos pacientes en comparación con la del grupo control; ni afirmar que la severidad de la afectación dentaria y sistémica están relacionadas.

Por otro lado, la *hipótesis alternativa de trabajo*, implica la existencia de características ultraestructurales específicas a nivel del esmalte, la dentina y la unión amelodentinaria en dientes temporales de sujetos con OI en comparación con sujetos controles no afectados. Además, es posible establecer que los cambios morfológicos ultraestructurales están relacionados con la afectación clínica y radiográfica observada en la dentición de estos pacientes en comparación con la del grupo control; así como afirmar que la severidad de la afectación dentaria y sistémica están relacionadas.

Objetivo general

Estudiar y describir la afectación de la dentición temporal de sujetos con Osteogénesis Imperfecta a nivel del esmalte, la dentina y la unión amelodentinaria mediante microscopía electrónica de barrido, en comparación con un grupo control no afecto.

Objetivos específicos

1. Analizar con microscopía electrónica de barrido y describir la afectación morfológica del esmalte, la dentina y la unión amelodentinaria de dientes temporales procedentes de sujetos con Osteogénesis Imperfecta en comparación con un grupo control no afecto.
2. Estudiar la relación de los hallazgos morfológicos del esmalte, dentina y unión amelodentinaria, estudiados en el objetivo previo, con la severidad de la Osteogénesis Imperfecta, mediante la clasificación original de Sillence.
3. Analizar la densidad y el diámetro de los túbulos dentinarios de dientes temporales procedentes de sujetos con Osteogénesis Imperfecta en comparación con un grupo control no afecto.
4. Estudiar la relación entre el diámetro y la densidad tubular, estudiados en el objetivo previo, con la severidad de la Osteogénesis Imperfecta, mediante la clasificación original de Sillence.
5. Determinar con espectroscopía de dispersión de energía la cantidad de calcio y fósforo presente en la dentina de dientes temporales de sujetos con Osteogénesis Imperfecta, en comparación con el grupo control no afecto.
6. Analizar la relación de la cantidad de calcio y fósforo, estudiados en el objetivo previo, con la severidad de la Osteogénesis Imperfecta, mediante la clasificación original de Sillence.
7. Analizar la relación entre los hallazgos morfológicos dentarios y los signos clínicos y radiográficos de Dentinogénesis Imperfecta.
8. Estudiar la severidad de la afectación dental en base a criterios clínico-radiográficos, y determinar la relación con la severidad de la afectación sistémica, mediante la clasificación original de Sillence.

MATERIAL Y MÉTODO

Diseño del estudio

Se trata de un estudio de diseño transversal, observacional y analítico, realizado en dos fases de estudio.

En la primera fase del estudio se examinaron con microscopía electrónica de barrido (MEB) dientes temporales de sujetos con OI, en comparación con un grupo control de dientes procedentes de niños sanos.

En la segunda fase de estudio se analizó la relación entre la presencia de alteraciones dentarias ultraestructurales, estudiada en la primera fase de estudio, con los signos patológicos clínicos y radiográficos dentarios de una cohorte de pacientes con OI.

Muestras

La *población de estudio* fueron sujetos con OI que acuden a la clínica del título propio “Especialista en Odontología Integrada en el niño con Necesidades Especiales”, de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid (UCM). Las *muestras de la investigación* fueron diferentes para las dos fases de estudio; en la primera fase fueron aquellos dientes temporales obtenidos de la población de estudio que cumplían los criterios de inclusión y exclusión, mientras que en la segunda fase fueron sujetos con OI pertenecientes a la población del estudio que a su vez cumplían unos criterios de inclusión y exclusión específicos.

Así, para la primera fase de estudio se seleccionó una muestra control, procedente de dientes de sujetos sanos, con el fin de poder establecer un patrón de normalidad dentaria ultraestructural y poder comparar los hallazgos. La muestra control se obtuvo de la práctica privada de los investigadores principales, cumpliendo con unos criterios de inclusión y exclusión establecidos previamente.

Este estudio se ha realizado con la colaboración de la Fundación AHUCE (Asociación de Huesos de Cristal de España) bajo el amparo del convenio de la Fundación AHUCE con la Universidad Complutense de Madrid (UCM) incluido en la línea de investigación “Contribución de las repercusiones orales y craneofaciales al diagnóstico actual de la OI y a su modulación terapéutica”.

Aspectos legales y éticos

Cumpliendo con la normativa actual todos los sujetos de estudio debieron firmar el Consentimiento Informado (Anexos 1 y 2), previa información por parte del investigador principal y entrega de la hoja de información al paciente (Anexos 3 y 4); habiendo sido aprobado el presente estudio por el Comité Ético del Hospital Clínico San Carlos (Anexo 5). En cumplimiento de la normativa vigente, los menores que tengan 12 o más años fueron informados en un lenguaje sencillo y adaptado a su madurez, recabando su asentimiento.

Así, se respetó en todo momento la Ley Orgánica 15/1999, del 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal mediante la codificación de los sujetos de estudio. Del

mismo modo, se siguieron y respetaron las directrices del Real Decreto 1716/2011, del 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica.

Tamaño muestral y procedimiento de muestreo

Muestra de estudio (dientes de sujetos con OI)

La Unidad de Osteogénesis Imperfecta del Hospital Universitario de Getafe es uno de los centros de referencia nacionales de pacientes con OI. Dicha Unidad es pionera en el tratamiento médico y quirúrgico de la OI, y debido a ello los pacientes con OI acuden regularmente a revisión y tratamiento de la enfermedad con un protocolo terapéutico individualizado.

Debido a que los niños con OI presentan con gran frecuencia alteraciones bucodentales asociadas, muchos de estos pacientes son remitidos al título propio de “Odontología integrada en el niño con necesidades especiales” impartido en la Facultad de Odontología de la UCM, y dirigido por el Dr. M. Joaquín de Nova García. Este título propio, dedicado desde el 2003 a diagnosticar y tratar odontológicamente a pacientes con patologías sistémicas asociadas, es clínica de odontología de referencia de AHUCE (Asociación de Huesos de Cristal de España) y AMOI (Asociación de Osteogénesis Imperfecta de Madrid), dos asociaciones sin ánimo de lucro españolas. En el título propio referido anteriormente se realiza una historia clínica que consta de 3 apartados:

- Historia médica:
 - Tipo de OI, clasificado según la severidad sistémica en OI leve (tipo I), moderada (OI tipo IV) o severa (OI tipo III) siguiendo la clasificación de Sillence.
 - Informes médicos, en los que es de especial relevancia la información acerca del tipo de mutación genética, evolución médica de la OI, y el tratamiento actual y previo (fármacos administrados, y dosis o ciclos de los mismos).
- Historia odontológica: en ella se incluye toda la información tanto clínica como radiológica dentaria, en la que se incluyen datos acerca de si existen anomalías dentarias (de número, color, estructura o forma), patología actual y/o maloclusión dentaria.
- Historia comportamental: nos informa de la predisposición y del comportamiento del niño ante la visita al médico y/o odontólogo.

Las fotografías intra y extraorales forman parte del examen periódico de los niños que acuden a la clínica del Título Propio, ya que permiten evaluar el estado actual de la boca del niño, y la evolución bucodental con el paso de los años. Las radiografías, tanto intra como extraorales, también forman parte del diagnóstico y seguimiento de los pacientes.

Debido a la baja incidencia de la OI, en nuestro estudio no se seleccionó un tamaño mínimo de tamaño muestral. El tipo de muestreo fue no probabilístico de casos consecutivos, considerándose como fecha límite para la obtención de muestras de estudio junio de 2018.

Los *criterios de inclusión* que deben de cumplir los dientes para formar parte de la muestra en la primera fase de estudio serán:

- Dientes deciduos o temporales.
- Dientes obtenidos obtenido mediante exfoliación o extracción dental (por motivos de control eruptivo o patología justificada) que hayan sido inmediatamente conservado de forma adecuada.
- Deben proceder de pacientes con un diagnóstico médico de OI, aportando informes médicos.
- Consentimiento informado para participar en el estudio. Consentimiento de padres/tutores legales y asentimiento del paciente en el caso de sujetos menores de edad.

No se incluye la edad como criterio de inclusión ya que se contempla la posibilidad de obtener dientes temporales también de pacientes adultos, por persistencia de los mismos; por lo tanto, se considera que se pueden incluir pacientes de todas las edades en el estudio.

Por otro lado, se considerarán *criterios de exclusión*, y que por lo tanto excluirán al diente de la primera fase de estudio, los siguientes:

- Diagnóstico no confirmado de la enfermedad, o falta de informes médicos.
- Una conservación inadecuada de los dientes obtenidos.
- Los dientes obtenidos no conservan estructura dentaria suficiente necesaria para la preparación de las muestras o para su visualización en el microscopio electrónico de barrido.
- El diente recogido presenta tratamiento pulpar.
- Falta de consentimiento informado paterno o asentimiento del niño para participar en el estudio; o rechazo de los mismos a participar.

Para la segunda fase de estudio, se consideraron como muestras de estudio los sujetos a los que pertenecían las muestras dentarias de la primera fase de estudio, por lo que el único criterio de inclusión era que fueran los donantes de dientes que hubiesen formado parte de nuestra primera fase de estudio, quedando excluidos todos aquellos que no cumplían esta condición. Aunque todos los sujetos con dientes en la primera fase de estudio quedaron incluidos en la segunda fase del trabajo, se consideraron unos criterios de inclusión y exclusión para las imágenes fotográficas y radiográficas.

- Las imágenes fotográficas han de ser de una calidad adecuada, tomadas todas con la misma cámara fotográfica perteneciente al título propio de "Odontología Integrada en el niño con necesidades especiales" de la UCM. Serán evaluadas series fotográficas que consten de 5 fotografías, siendo éstas frontal, lateral derecha e izquierda, y oclusal superior e inferior.
- Las imágenes radiográficas de elección serán ortopantomografías. Cuando por motivos anatómicos del sujeto no sea posible tomar la ortopantomografía se considerarán suficientes las aletas de mordida derecha e izquierda.

Por otro lado, quedarán excluidos aquellos registros que no estén disponibles o que sean de mala calidad, no cumpliendo los criterios de inclusión descritos anteriormente.

Muestra control (dientes de sujetos sin OI)

Para la primera fase del estudio se recogió una muestra control de dientes de sujetos sin patología sistémica, con el objetivo de poder llevar a cabo un adecuado análisis de la alteración dentaria determinando la normalidad estructural.

Ésta muestra control se obtuvo de la labor profesional privada de los investigadores principales del estudio, mediante muestreo no probabilístico de casos consecutivos, hasta llegar a un número de 30 muestras, de acuerdo a unos criterios de inclusión y exclusión expuestos a continuación.

Así, los criterios de *inclusión* que debieron cumplir los dientes para formar parte del grupo control fueron:

- Dientes deciduos o temporales.
- Deben proceder de pacientes sanos, sin patologías sistémicas ni medicaciones crónicas.
- Dientes procedentes de sujetos con una edad inferior a 18 años.
- Dientes que carezcan de patología que afecte a su estructura tal como amelogénesis imperfecta, dentinogénesis imperfecta o hipoplasias tisulares, entre otras.
- Dientes obtenidos obtenido mediante exfoliación o extracción dental (por motivos de control eruptivo o patología justificada) que hayan sido inmediatamente conservado de forma adecuada.
- Consentimiento informado para participar en el estudio. Consentimiento de padres/tutores legales y asentimiento del paciente en el caso de sujetos menores de edad.

Por otro lado, se consideraron como *criterios de exclusión*:

- Dientes que procedan de sujetos con alguna patología sistémica, o pacientes con medicación crónica.
- Presencia de alguna anomalía dentaria estructural como amelogénesis imperfecta, dentinogénesis imperfecta o hipoplasias tisulares, entre otras.
- Conservación inadecuada del diente tras su exfoliación o extracción.
- El diente obtenido no conserva estructura dentaria suficiente necesaria para la preparación de las muestras o para su visualización en el MEB.
- El diente recogido presenta tratamiento pulpar.
- Falta de consentimiento informado paterno o asentimiento del niño para participar en el estudio; o rechazo de los mismos a participar.

Tratamiento de las muestras dentarias

Con el fin de respetar la Ley Orgánica 15/1999, del 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal, los sujetos de estudio fueron codificados mediante un código compuesto por tres letras correspondientes a las tres primeras iniciales del nombre que figure en la historia clínica. Así, cada diente estuvo codificado mediante un código alfanumérico compuesto por el código de sujeto seguido del número de diente según el método de nomenclatura dentaria de la Federación Dental Internacional (FDI).

Los dientes obtenidos fueron conservados de forma inmediata en una solución de formaldehído al 35% rebajado con agua destilada en proporción $\frac{1}{4}$ y en un entorno refrigerado. Posteriormente se procesaron para el estudio en el MEB. Esta preparación consiste en:

1. Selección dentaria mediante examen visual, comprobando que existía material dentario sano suficiente para el preparado y análisis de la muestra. En caso de obtener más de un diente de un mismo sujeto se seleccionaron tres dientes siendo éstos un incisivo, un canino y un molar temporal.
2. Hemisección dentaria, longitudinalmente y en sentido vestibulo-lingual, en máquina cortadora EXAKT Cutting Unit 400C. Tras la hemisección dentaria las muestras se fijaron a un bloque metálico mediante un gel adhesivo instantáneo, Loctite® SuperGlue-3 (Figura 10).

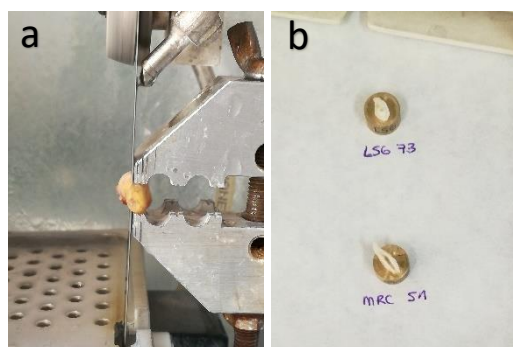


Figura 10. Imagen de la hemisección dentaria realizada con la máquina cortadora EXAKT Cutting Unit 400C (a), y posterior fijación al bloque metálico (b).

3. Pulido de las muestras dentarias en máquina pulidora (50-8435 MICRODUO-I AUTO) (Figura 11). Para ello se utilizaron discos de pulir de carburo de silicio de diferente grosor siguiendo la siguiente secuencia:
 - a. Disco 600
 - b. Disco 800/2400
 - c. Disco 1200/4000

Al finalizar el pulido de cada disco se comprobaba mediante microscopía óptica la ausencia de líneas o artefactos creados durante el pulido.



Figura 11. Máquina pulidora 50-8435 MICRODUO-I AUTO.

4. Grabado ácido de los dientes con gel de ácido ortofosfórico al 37% (3M ESPE® Scotchbond™) durante 20 segundos, y posterior lavado y secado mediante pistola de aire y agua.
5. Evaporado y orificación o metalizado de las muestras. Las máquinas utilizadas para el evaporado y el metalizado de las muestras fueron Quorum Q150T S y Quorum Q150R S respectivamente (Figura 12).

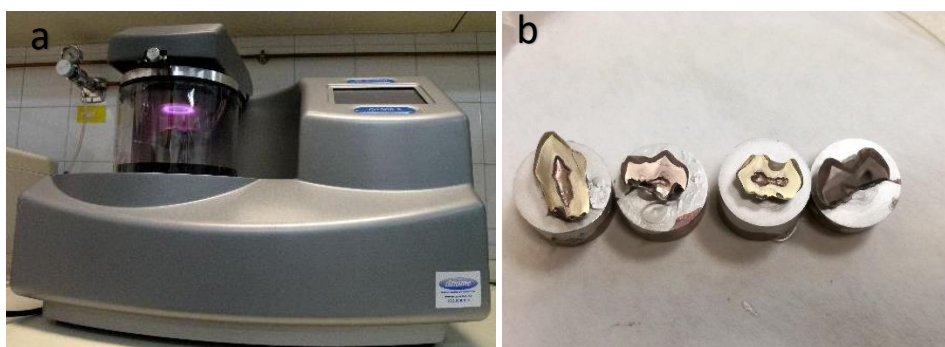


Figura 12. Máquina metalizadora Quorum Q150R S (a) y muestras tras el proceso de metalizado (b).

Posteriormente se visualizaron las muestras en el MEB JEOL 6400 JSM, obteniendo las siguientes imágenes de forma protocolizada, utilizando los mismos parámetros en todos los casos (Tabla 6).

Contraste empleado	Carbono y oro
Energía	20 kV
Segundos de exposición	80 segundos
Distancia de trabajo	15 mm

Tabla 6. Parámetros empleados en el MEB.

Las imágenes obtenidas fueron:

- Esmalte: imagen a 500 aumentos. Si hubiera hallazgos patológicos se procedería a fotografiar a 1000 y 2000 aumentos, en caso contrario se prescindiría de éstos.
- UAD: imágenes a 500, 1000 y 2000 aumentos.

- Dentina: se procedió al análisis de la dentina en 4 zonas diferentes, siendo denominados desde la región de dentina más externa a la más interna dentina oclusal, dentina media, dentina profunda y dentina pulpar.

En todas ellas se procedió a obtener imágenes a 500, 1000 y 2000 aumentos.

La secuencia de visualización será inicialmente desde una cúspide hacia el tejido pulpar y posteriormente se llevará a cabo una visualización desde la zona cervical. Sólo se tomarán imágenes si los hallazgos encontrados en la segunda visualización difieren de la primera visualización.

En la UAD y en la dentina, en los aumentos de 2000, se llevó a cabo un análisis de espectroscopía de dispersión de energía (EDS) con una resolución de 133eV, que nos permite obtener un examen elemental semicuantitativo. Gracias al examen EDS se obtuvo la información acerca de la distribución en un perfil o línea de los elementos carbono, oxígeno, fósforo y calcio, obteniéndose los resultados en cuentas por segundo (cps), así como el porcentaje en peso atómico de los mismos tal como se distribuyen en esa línea.

Variables de estudio

Se llevó a cabo una recogida de datos que incluía variables demográficas, variables independientes y dependientes. Para la descripción de las variables de estudio debe considerarse que el estudio cuenta con dos fases:

- Una primera fase en la cual la muestra de estudio son dientes, en la que se analizará la ultraestructura dentaria en función de las variables independientes.
- Una segunda fase en la cual la muestra de estudio son sujetos con OI, en la cual se estudiará la relación entre los signos clínicos, radiográficos y ultraestructurales, tanto a nivel general de la muestra como en base al tipo de OI.

Variables demográficas

Se recogieron para las dos fases del estudio el sexo, la edad, el tratamiento farmacológico y la mutación genética. Las variables cualitativas sexo, tratamiento farmacológico y mutación genética fueron codificadas para permitir posteriormente el análisis estadístico (Tabla 7); y la variable cuantitativa edad fue valorada en años.

Sexo		Tratamiento farmacológico		Mutación genética.	
1	Varón	1	No	1	COL1A1-COL1A2
2	Mujer	2	Si	2	Otra mutación

Tabla 7. Codificación de las variables demográficas sexo, tratamiento farmacológico y mutación genética.

Primera fase del estudio

Variables independientes

Las variables independientes en la primera fase de estudio fueron el grupo de estudio, la severidad de OI siguiendo la clasificación de Sillence y el tipo de diente, cuya codificación puede observarse en la Tabla 8.

Grupo de estudio		Gravedad sistémica de la Osteogénesis Imperfecta. Clasificación de Sillence.		Tipo de diente	
1	Control	1	Control	1	Incisivo
2	OI	2	OI tipo I. Leve.	2	Canino
		3	OI tipo IV. Moderadamente deformante.	3	Molar
		4	OI tipo III. Severamente deformante.		

Tabla 8. Codificación de las variables independientes de la primera fase del estudio.

Variables dependientes

Las variables dependientes de la primera fase del estudio fueron todas aquellas variables de interés ultraestructural; y por lo tanto se evaluaron alteraciones morfológicas en los puntos de estudio (esmalte, dentina y UAD), el diámetro y recuento tubular, y el recuento medio de calcio y fósforo que nos aportó el análisis EDS.

- Alteraciones morfológicas en el esmalte, UAD y dentina. Se examinaron el esmalte, la UAD (a nivel cervical y oclusal) y la dentina (en los cuatro puntos de diferente profundidad explicados previamente), codificándose los hallazgos de forma cualitativa (tabla 9).

Esmalte	
1	Ausencia de alteraciones. El esmalte presenta una estructura prismática normal.
2	Alteración leve en la disposición y estructura de los prismas de esmalte.
3	Alteración moderada en la disposición y estructura de los prismas de esmalte.
4	Alteraciones severas de la estructura del esmalte, con presencia de zonas amorfas.
Unión amelodentinaria	
1	Ausencia de alteraciones. No se observa separación de la UAD.
2	Alteración leve. Se observa una ligera separación de la UAD, o cambios puntuales en áreas de la UAD alternando con regiones sin patología.
3	Alteración moderada. Fractura de la UAD en la que se observan esmalte y dentina separados.
4	Alteración severa. Fractura de la UAD en la que se observan prismas de esmalte adheridos a la dentina.
Dentina	
1	Ausencia de alteraciones. La dentina tiene un aspecto tubular homogéneo.
2	Alteración leve. Ligeras discrepancias en el diámetro, dirección y/o densidad tubular.
3	Alteración moderada. Discrepancias evidentes en el diámetro, dirección y/o densidad tubular.
4	Alteración severa. Ausencia de estructura tubular, con aspecto amorfo de la dentina.

Tabla 9. Codificación de las variables ultraestructurales en la primera fase del estudio.

Con el fin de poder establecer una medida de la afectación general de la dentina se creó la variable cualitativa de severidad de afectación de la dentina. Para su

medición se realizó un sumatorio de las puntuaciones obtenidas en los 4 puntos de la dentina estudiados, y dependiendo de la cifra se clasificó de forma cualitativa en 3 grupos (tabla 10).

Sumatorio códigos de la dentina		
1	<8	Leve
2	8-11	Moderada
3	>11	Severa

Tabla 10. Codificación de la severidad de la afectación de la dentina.

- Diámetro tubular, medido en μm : se llevaron a cabo las mediciones medias del diámetro tubular en los cuatro puntos de la dentina examinados a 2.000 aumentos. Para ello se utilizó el programa ImageJ, calibrado previamente con la barra inferior de las imágenes del microscopio, correspondiente a 20 μm . Solamente se midió el diámetro de aquellos túbulos que se veían completos en la imagen del microscopio.
- Recuento tubular, medido en túbulos/ mm^2 : se llevó a cabo el recuento tubular manualmente en las imágenes de 2.000 aumentos, obteniéndose inicialmente en μm^2 y siendo posteriormente expresados en mm^2 . Solo se contabilizaron los túbulos que se veían completos o en el caso en el que estuviesen cortados por la imagen del microscopio, que se viera más de la mitad del túbulo.
- Recuento de calcio, medido en cps: Analizado en los cuatro puntos de diferente profundidad de la dentina.
- Recuento medio de fósforo, medido en cps: Analizado en los cuatro puntos de profundidad de la dentina.

Dependiendo del lugar exacto de corte los túbulos dentinarios se podrán visualizar de forma longitudinal o transversal, lo cual puede afectar a las variables diámetro y recuento de túbulos dentinarios, y por ello se creó la variable Patrón Dentinario (Tabla 11). De esta forma se elimina el efecto que pueda tener la dirección de los túbulos dentinarios en el corte microscópico seleccionado.

1	Longitudinal.
2	Transversal

Tabla 11. Patrón de corte de los túbulos dentinarios

Segunda fase del estudio

- Variables clínicas (Tabla 12):
 - Alteraciones clínicas: se evaluó de forma dicotómica la presencia de alteraciones clínicas. Se consideró patológica la presencia de alteraciones del color dental, aspecto clínico de coronas bulbosas, atrición dental severa y desprendimientos de esmalte.

- Alteraciones del color dental: se evaluó de forma cualitativa la alteración del color dental.

Alteraciones clínicas		Alteración del color dentario	
1	Ausentes.	1	Ausente
2	Presentes.	2	Amarillo-marrón.
3	-	3	Azul-gris.

Tabla 12. Codificación de las variables clínicas del estudio.

- Alteraciones radiográficas: se considerará de forma cualitativa dicotómica la presencia de alteraciones radiográficas tales como alteraciones del desarrollo radicular (constricción cervical acentuada, raíz corta y/o estrecha, angulación radicular atípica...), y como alteraciones del tamaño y forma de la cavidad pulpar (hiperplasia pulpar, obliteración pulpar...) (Tabla 13).

1	Ausente
2	Presente

Tabla 13. Codificación de las alteraciones radiográficas.

- Variables ultraestructurales (Tabla 14):
 - Alteraciones ultraestructurales: se contabilizó de forma dicotómica la presencia o ausencia de alteraciones morfológicas ultraestructurales. En aquellos sujetos que se hubiese examinado más de un diente se contabilizó de forma genérica teniendo en cuenta todas las muestras de ese sujeto.
 - Severidad de la afectación de la dentina: valorada y codificada igual que en la primera fase del estudio. En aquellos sujetos que tenían más de un diente examinado en la primera fase de estudio se llevó a cabo la media de las variables de alteración de la dentina en la primera fase de estudio, y posterior redondeo matemático.

Alteraciones ultraestructurales de la dentina		Severidad de la afectación de la dentina	
1	Ausentes.	1	Leve
2	Presentes.	2	Moderada
		3	Severa

Tabla 14. Codificación de las variables ultraestructurales en la segunda fase de estudio.

- Severidad de la afectación dentaria: derivado de los datos clínicos, radiográficos y ultraestructurales se llevó a cabo la cuantificación de la severidad de la alteración dentaria en 3 categorías, recogidas en la tabla 15. Las categorías solo recogen datos clínicos y radiográficos ya que todas las muestras mostraron alteración ultraestructural en al menos un punto de la dentina.

1	No afectación dental clínica ni radiográfica.
2	Alteración solamente radiográfica.
3	Alteración dental clínica y radiográfica.

Tabla 15. Codificación de la severidad de la alteración dentaria.

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo con el programa SPSS versión 25 para Windows. Los métodos estadísticos utilizados fueron los siguientes:

1. Estadística descriptiva.
 - a. Para la descripción de las variables cuantitativas de las muestras se llevó a cabo la estadística descriptiva, la cual incluye la media, la desviación estándar, el máximo y el mínimo, entre otras medidas.
 - b. Para la descripción de las variables cualitativas se llevó a cabo la obtención de las frecuencias y porcentajes por categorías.
2. Estadística inferencial.
 - a. *Índice de Kappa y Coeficiente de Correlación Intraclass*: para evaluar la fiabilidad o concordancia de las medidas intraobservador de cada variable se llevó a cabo el Índice de Kappa para las variables cualitativas y el Coeficiente de Correlación Intraclass (ICC) para las variables cuantitativas.
 - b. *Test Exacto de Fisher*: para observar las diferencias de las variables cualitativas entre los grupos de estudio.
 - c. *Test de Shapiro-Wilk para una muestra, con la corrección de Lilliefors*: para determinar si las variables cuantitativas del estudio proceden de una distribución normal.
 - d. *Prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney* para muestras independientes: para determinar la presencia de diferencias significativas en las variables cuantitativas entre dos grupos.
 - e. *Test no paramétrico de Kruskal-Wallis* para muestras independientes: para determinar la presencia de diferencias significativas en las variables cuantitativas entre más de dos grupos.
 - f. *Test posthoc de Bonferroni de comparaciones pareadas*: para la determinación de entre qué grupos existen las diferencias encontradas en el test de Kruskal-Wallis.
 - g. *Test de ANOVA de medidas repetidas*: para estudiar el efecto de la profundidad de la dentina en las variables cuantitativas. Se incluirán como parte del análisis el test de efectos intersujetos, el test de efectos intrasujetos y el test Geisser y Greenhouse (G-G).

Las pruebas se efectuaron con un nivel de confianza del 95% (p significativa $<0,05$) y significación bilateral (a dos colas). Así, la significación fue asintótica en todos los casos excepto en el Test Exacto de Fisher, en donde la significación es exacta.

RESULTADOS

Estudio de las características morfológicas dentarias en una muestra de dientes procedentes de sujetos con Osteogénesis Imperfecta en comparación con un grupo control.

Estudio de la fiabilidad de las medidas de las variables.

Es necesario, antes de describir y comparar las variables del estudio, estudiar la fiabilidad en la medición de las variables de estudio. Una medición se considera fiable si existe una estabilidad en los resultados obtenidos en mediciones repetidas en condiciones idénticas. Para la evaluación de la fiabilidad se deberá considerar si las variables son cualitativas o cuantitativas, para la elección del método de evaluación (109).

Debido a que se llevó a cabo una calibración de la investigadora principal del estudio para la medición de las variables a estudiar previo al inicio del estudio, las medidas fueron recogidas siempre por el mismo operador, y por ello solamente se llevó a cabo el estudio de la fiabilidad intraobservador.

Variables cualitativas

Para las variables cualitativas se utilizó el Índice de Kappa, que ofrece una estimación del grado de acuerdo no debido al azar, utilizando para ello la proporción del acuerdo esperado y observado (109). La interpretación del grado de concordancia del Índice de Kappa según el valor obtenido sigue la clasificación propuesta por Landis en 1977 (110) (Tabla 16).

Valor de Kappa	Grado de Concordancia
<0,00	Pobre
0,00-0,20	Leve
0,21-0,40	Justa
0,41-0,60	Moderada
0,61-0,80	Buena
0,81-1,00	Muy bueno o excelente

Tabla 16. Interpretación del grado de concordancia del Índice de Kappa. Tomado de Landis (110).

Las variables cualitativas del estudio se corresponden con la observación y evaluación de las alteraciones encontradas en las tres regiones dentarias estudiadas en el MEB, estos son esmalte, dentina y UAD. Aunque los valores del MEB estuvieron estandarizados durante el estudio, es importante considerar que las observaciones se realizan sobre imágenes, y, por lo tanto, sobre ellas pueden influir factores que den lugar a una alteración o distorsión de la imagen obtenida, y, por lo tanto, de la observación que se haga sobre ella. Entre los factores que se consideró que podrían actuar como alteradores de la imagen, los más importantes fueron defectos del microscopio, alteraciones durante el preparado de las muestras e inclusión de artefactos en las imágenes de las muestras. Debido a estas consideraciones, es importante efectuar una medición de la fiabilidad de las variables estudiadas, con el objetivo de evaluar la fiabilidad de las mediciones y de los criterios utilizados en el análisis de las imágenes.

Para la evaluación del índice de acuerdo intraobservador en las variables cualitativas se llevó a cabo una segunda medición de un total de 25 muestras tomadas al azar, que suponen un 45,45% de la muestra total. Esta medición se llevó a cabo tres meses después de la última medición de la muestra de estudio. Los valores obtenidos en el Índice de Kappa evidencian un grado de acuerdo intraobservador entre bueno y excelente en las variables estudiadas (Tabla 17). Este gran nivel de acuerdo de las variables estudiadas demuestra que las categorías creadas para la evaluación de las alteraciones morfológicas en el esmalte, dentina y UAD son reproducibles, y por lo tanto útiles para el análisis morfológico dentario y la comunicación interprofesional.

Variable evaluada	Valor de Kappa	Interpretación del grado de acuerdo
Esmalte	0,94	Excelente
UAD oclusal	1	Excelente
UAD cervical	1	Excelente
Dentina Oclusal	0,735	Bueno
Dentina Media	0,787	Bueno
Dentina Profunda	0,890	Excelente
Dentina Pulpar	0,874	Excelente

Tabla 17. Interpretación del grado de concordancia de las variables de estudio mediante el Índice de Kappa.

Variables cuantitativas

Para evaluar la concordancia o acuerdo de variables cuantitativas se utiliza el Coeficiente de Correlación Intraclass (CCI), que combina una prueba de correlación con una prueba de diferencia de medias, para corregir el error sistemático (109). De igual forma que el Índice de Kappa, el CCI debe interpretarse dependiendo del valor obtenido (Tabla 18).

Valor de CCI	Grado de concordancia
<0,30	Mala o nula
0,31-0,50	Mediocre
0,51-0,70	Moderada
0,71-0,90	Buena
>0,90	Muy buena o excelente

Tabla 18. Interpretación del grado de concordancia del CCI. Tomado de Sánchez Fernández y colaboradores (109).

Las variables cuantitativas de estudio se midieron sobre imágenes obtenidas en el MEB, utilizando para ello el programa informático ImageJ para Windows. Al estar medidas sobre imágenes, a los posibles problemas expuestos en el punto anterior se suman los defectos del programa informático, como puede ser la alteración en la escala de medición o la poca exactitud si la nitidez de la imagen no es adecuada. Por ello es necesario evaluar el grado de acuerdo de las mediciones, para poder determinar que tanto el método como el instrumento de medida de las variables cuantitativas fueron los adecuados.

La evaluación de la concordancia intraoperador de las variables cuantitativas se llevó a cabo mediante una segunda medición de 25 muestras tomadas al azar. Debido a que el punto de la dentina en el que se lleva a cabo la medición no influye en la medición de la variable, se seleccionó mediante el azar uno de los cuatro puntos de estudio, resultando seleccionado la Dentina Media. Tanto el recuento como el diámetro de los túbulos dentinarios obtuvieron unos valores de ICC que se corresponden con un excelente grado de acuerdo, de lo que se deduce que tanto el método de medición como el programa informático utilizados son fiables en la medición del recuento y diámetro de los túbulos dentinarios (Tabla 19).

Variable evaluada	Valor de ICC	Interpretación del grado de acuerdo
Recuento de túbulos	0,996	Excelente
Diámetro medio de túbulos	0,988	Excelente

Tabla 19. Interpretación del grado de concordancia de las variables de estudio mediante el Índice de Kappa.

Descripción de la muestra de estudio y la muestra control.

Descripción de las variables demográficas

La muestra estudiada que cumplió los criterios de inclusión y exclusión fue de 55 dientes, de los cuales 30 fueron dientes control y 25 dientes procedentes de sujetos con OI. Las variables demográficas recogidas pueden observarse en la Tabla 20 y los Gráficos 1 y 2.

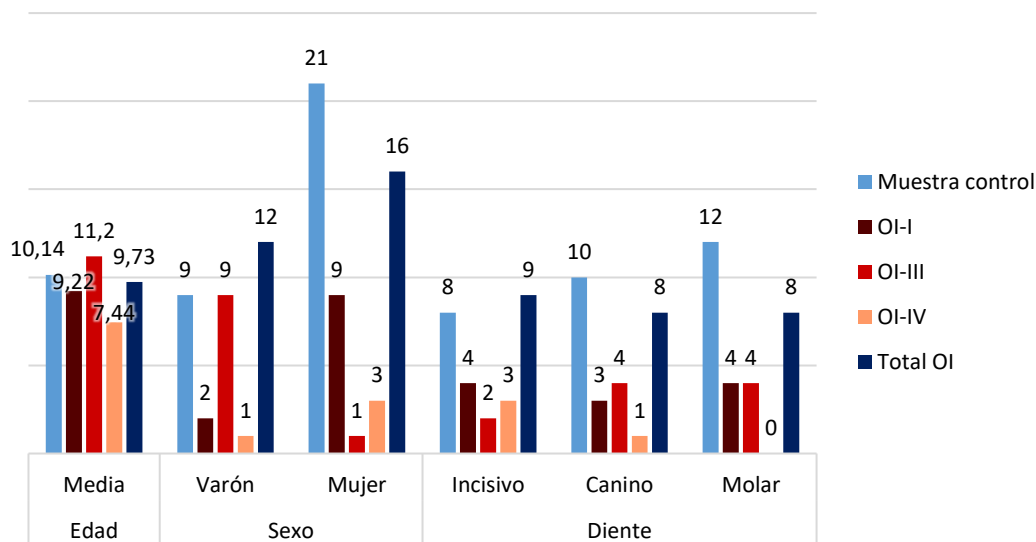


Gráfico 1. Frecuencias y porcentajes de las variables demográficas de las muestras de estudio edad, sexo y tipo de diente en la primera fase de estudio.

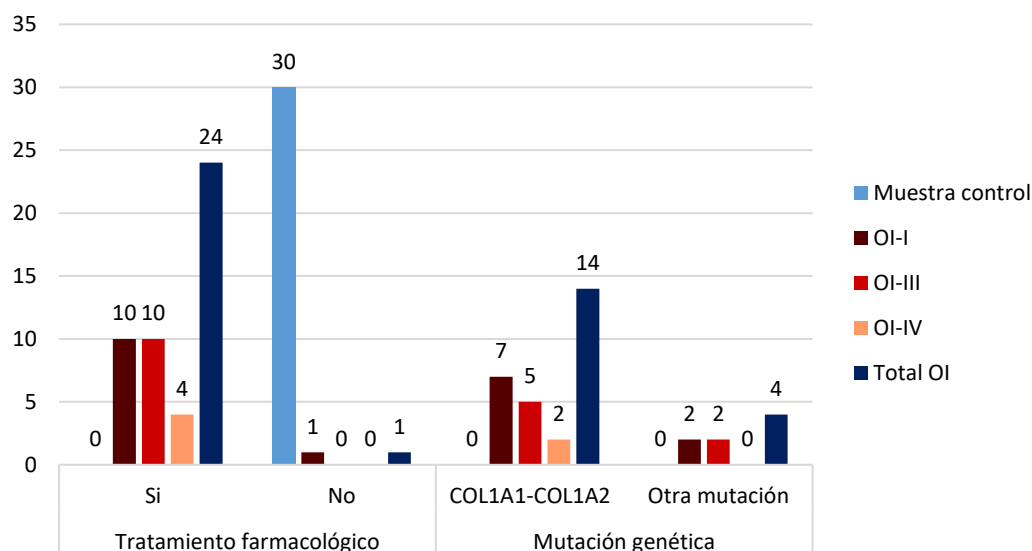


Gráfico 2. Frecuencias y porcentajes de las variables demográficas de las muestras de estudio tratamiento farmacológico y mutación genética en la primera fase de estudio.

	Edad de la extracción dental (años)				Sexo		Tipo de Diente			Tratamiento farmacológico		Mutación genética	
	Media	Moda	Mediana	DS	Varón	Mujer	Incisivo	Canino	Molar	Si	No	COL1A1-COL1A2	Otra mutación
Muestra control (n=30)													
Total	10,14	11,34	11,17	2,64	9 30%	21 70%	8 26,7%	10 33,3%	12 40%	-	30 100%	-	-
Muestra de estudio (n=25)													
OI-I	9,22	11,5	9,58	3,34	2 18,2%	9 81,8%	4 36,4%	3 27,3%	4 36,4%	10 90,9%	1 9,1%	7 77,8%	2 22,2%
OI-III	11,20	9,34	9,71	3,77	9 90%	1 10%	2 20%	4 40%	4 40%	10 100%	-	5 71,4%	2 28,6%
OI-IV	7,44	5,25	7,83	1,54	1 25%	3 75%	3 75%	1 25%	-	4 100%	-	2 100%	-
Total	9,73	11,50	9,42	3,49	12 48%	16 52%	9 36%	8 32%	8 32%	24 96%	1 4%	14 77,8%	4 22,2%

Tabla 20. Frecuencias y porcentajes de las variables demográficas de las muestras de la primera fase de estudio.

Para estudiar la distribución de la variable cuantitativa edad se llevó a cabo el test de Shapiro-Wilk, obteniendo como resultado que la distribución de la edad no seguía una distribución normal ni en el grupo control (p Shapiro-Wilk 0,013) ni en el de estudio (p Shapiro-Wilk 0,004). Al diferenciar entre los tipos de OI, solamente en el caso de los sujetos con OI tipo IV la edad seguía una distribución normal (p Shapiro-Wilk 0,451), mientras que en los sujetos con OI tipo I (p Shapiro-Wilk 0,005) o tipo III (p Shapiro-Wilk 0,001) no se cumplían criterios de normalidad. La falta de normalidad en la distribución de la edad en las muestras de estudio se consideró secundaria a la pequeña muestra de estudio. A pesar de ello, no se consideró que la edad de la extracción dental se pudiese considerar un factor que afecte a la morfología de la ultraestructura dentaria, por lo que no se consideró un factor distractor.

Se llevó a cabo un estudio de homogeneidad de distribución de las variables cualitativas que fueron recogidas en ambos grupos del estudio, con el objetivo de establecer que no existían

variables que pudiesen estar actuando como variables de distracción. De este modo, se efectuó el test exacto de Fisher para las variables sexo y tipo de diente; mientras que las variables tratamiento farmacológico y mutación genética no fueron analizadas, puesto que solamente se recogieron para el grupo de OI. La distribución de las variables demográficas sexo (p Fisher 0,265) y tipo de diente (p Fisher 0,745) fue homogénea en los dos grupos de estudio. También se llevó a cabo el estudio de la homogeneidad de las variables demográficas teniendo en cuenta el tipo de OI. En este caso, la variable sexo (p Fisher 0,002) no cumplía criterios de homogeneidad, mientras que la distribución del tipo de diente (p Fisher 0,631) sí que los cumplía. El sexo del individuo no se considera una variable que pueda afectar los datos del estudio, debido a que la morfología dentaria no depende del sexo del sujeto, por lo tanto, no se consideró relevante la falta de homogeneidad del género de los sujetos en los tipos de OI.

Descripción de los hallazgos en el esmalte, dentina y unión amelodentinaria

La alteración de la ultraestructura dentaria, analizada a nivel del esmalte, unión amelodentinaria (UAD) y dentina fue estudiada en el grupo control, en los pacientes con OI y en los 3 tipos de OI. Para un mejor análisis y descripción de los datos, se llevará a cabo una división de los resultados en los 3 puntos anatómicos, esmalte, dentina y UAD.

El esmalte dentario se presentó alterado en solamente un diente control (3,3%), frente a un 60% de afectados en el grupo de OI (Tabla 21 y Gráfico 3). Cuando se encontraron alteraciones en los dientes de sujetos con OI, lo más frecuente fue encontrar una alteración moderada del esmalte (32%) en la cual se encontraban alteraciones evidentes en la disposición y estructura de los prismas de esmalte, encontrando prismas fracturados y áreas con prismas de esmalte mal definidos. Las alteraciones del esmalte fueron más frecuentes en la OI tipo IV (75% de afectados), seguidos de la OI tipo I (63,6% de afectados) y OI tipo III (50%). En aquellos dientes en los que se encontró un esmalte afectado, lo más frecuente en los dientes con OI tipo I fue encontrar alteraciones leves, mientras que en los dientes con OI tipo III y IV lo más frecuente fueron las alteraciones moderadas. Solamente se encontró una alteración severa del esmalte en un diente, procedente de una paciente con OI tipo IV, en el que se encontró una inclusión ovoidea en el esmalte, rodeada por un esmalte aprismático desestructurado.

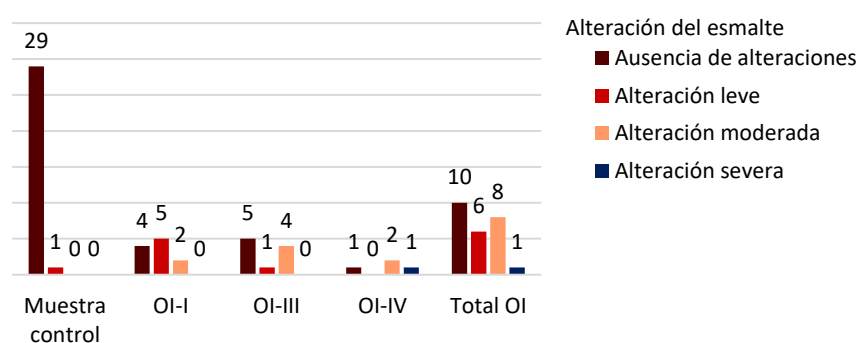


Gráfico 3. Frecuencias de la alteración del esmalte en la muestra control y de estudio

	Ausencia de alteraciones	Alteración leve	Alteración moderada	Alteración severa
Muestra control				
Total	29 (96,7%)	1 (3,3%)	-	-
Muestra de estudio				
OI-I	4 (36,4%)	5 (45,5%)	2 (18,2%)	-
OI-III	5 (50%)	1 (10%)	4 (40%)	-
OI-IV	1 (25%)	-	2 (50%)	1 (25%)
Total	10 (40%)	6 (24%)	8 (32%)	1 (4%)

Tabla 21. Frecuencias y porcentajes de la alteración del esmalte en la muestra control y de estudio.

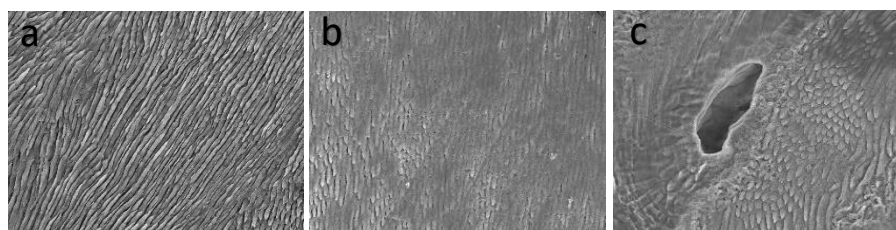


Figura 13. Esmalte. Imágenes con MEB y un aumento de 500x (a-c). Esmalte sin alteraciones morfológicas, de un diente control (a), esmalte con alteraciones en la estructura prismática (b) y esmalte con alteraciones en la estructura prismática y la inclusión de una estructura ovoidea en su interior (c).

La UAD se estudió en la región oclusal y cervical (Tabla 22, Gráfico 4 y 5). La UAD oclusal se observó alterada en el 20% de los dientes sanos, en comparación con un 64% de afectados en el grupo de OI. Cuando se observaron alteraciones de la UAD oclusal en el grupo con OI, lo más frecuente fue encontrar alteraciones leves o discontinuas (28%) y una solución de continuidad limpia entre el esmalte y la dentina (28%). A nivel de la UAD cervical, solamente se encontraron alterados un 13,3% de los dientes sanos, mientras que en el grupo con OI supuso un 72%, siendo lo más frecuente encontrar una separación limpia entre el esmalte y la dentina (44%).

Si observamos los diferentes tipos de OI, a nivel de la UAD oclusal se encontró que los más afectados fueron los dientes con OI tipo IV, con un 75% de afectados, seguidos de los dientes con OI tipo III (70%) y tipo I (45,5%). La separación de la UAD con restos de esmalte adheridos solamente se encontró en dos sujetos, que padecen OI tipo I y III respectivamente. En los dientes con OI tipo I lo más frecuente, cuando la UAD oclusal estaba alterada, era encontrar alteraciones leves (27,3%), mientras que en los dientes con OI tipo IV fue encontrar una separación limpia entre el esmalte y la dentina (50%), y en los dientes con OI tipo III oscilaba entre la alteración leve (30%) y la solución de continuidad limpia (30%). Por otro lado, a nivel de la UAD cervical, la separación limpia entre el esmalte y la dentina fue lo más frecuente en los dientes con OI tipo III (60%) y IV (75%), mientras que en los dientes con OI tipo I la alteración más habitual fue leve (36,4%). Al igual que en la UAD cervical, solamente dos dientes procedentes de sujetos con OI tipo I y III mostraron restos de esmalte adheridos a la dentina en la UAD.

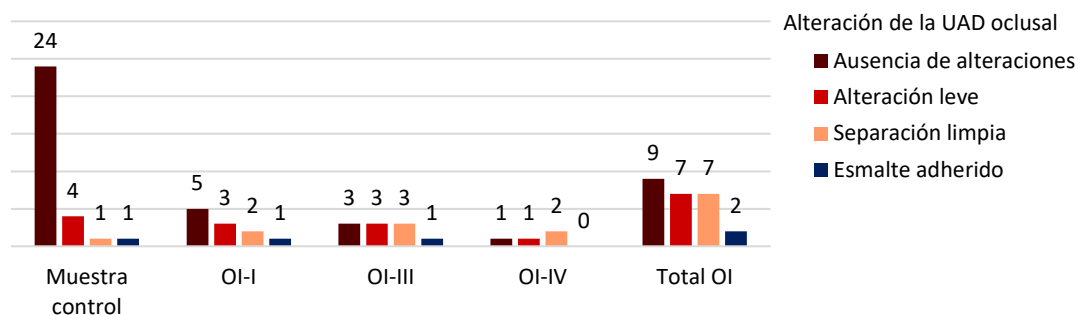


Gráfico 4. Frecuencias de la alteración de la UAD oclusal en la muestra control y de estudio.

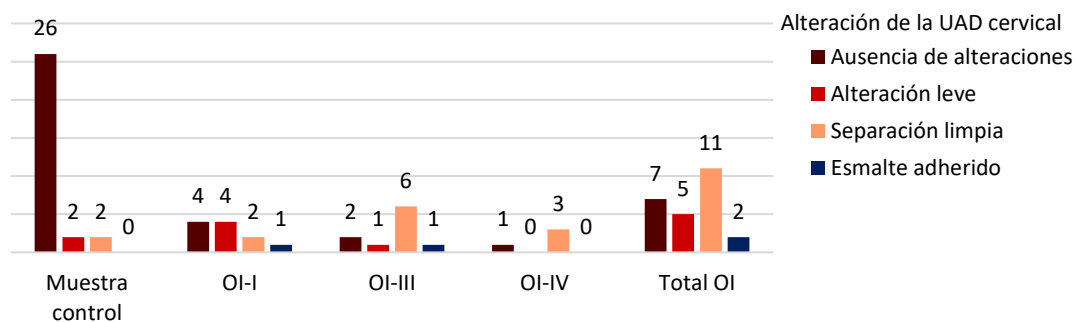


Gráfico 5. Frecuencias de la alteración de la UAD cervical en la muestra control y de estudio.

	OCLUSAL				CERVICAL			
	Ausencia de alteraciones	Alteración leve	Separación limpia	Esmalte adherido	Ausencia de alteraciones	Alteración leve	Separación limpia	Esmalte adherido
Muestra control								
Total	24 (80%)	4 (13,3%)	1 (3,3%)	1 (3,3%)	26 (86,7%)	2 (6,7%)	2 (6,7%)	-
Muestra de estudio								
OI-I	5 (45,5%)	3 (27,3%)	2 (18,2%)	1 (9,1%)	4 (36,4%)	4 (36,4%)	2 (18,2%)	1 (9,1%)
OI-III	3 (30%)	3 (30%)	3 (30%)	1(10%)	2 (20%)	1 (10%)	6 (60%)	1 (10%)
OI-IV	1 (25%)	1 (25%)	2 (50%)	-	1 (25%)	-	3 (75%)	-
Total	9 (36%)	7 (28%)	7 (28%)	2 (8%)	7 (28%)	5 (20%)	11 (44%)	2 (8%)

Tabla 22. Frecuencias y porcentajes de la alteración de la UAD en la muestra control y de estudio.

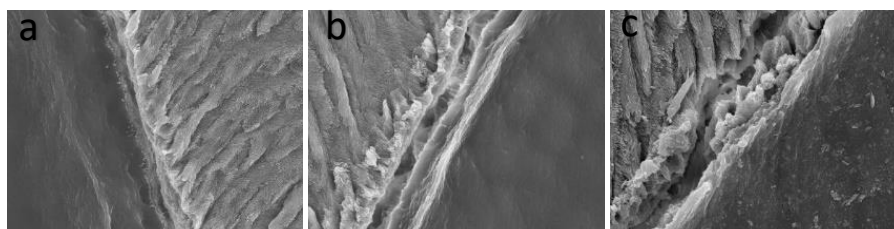


Figura 14. UAD, imágenes con MEB con magnificación original de 1000x. Imagen de una UAD normal, con unión entre el esmalte y la dentina (a), solución de continuidad limpia entre el esmalte y la dentina (b) y fractura del esmalte y la dentina con restos de prismas de esmalte adheridos a la dentina (c).

La dentina se estudió en 4 regiones, denominadas de la más externa a la más interna dentina oclusal, media, profunda y pulpar. Se consideró la presencia de una dentina patológica cuando los hallazgos se correspondían con alteraciones del patrón dentinario, como heterogeneidad o cambios en la dirección y diámetro de los túbulos dentinarios, o la disminución del número de túbulos dentinarios. En la muestra control solamente se afectaron

un pequeño número de dientes en la dentina media (10%), profunda (6,6%) y pulpar (3,3%). En la muestra de estudio, por el contrario, se afectaron el 40% de los dientes en la dentina oclusal, el 100% en la dentina media, el 84% en la dentina profunda y el 92% en la dentina pulpar; es importante resaltar que todos los dientes presentaron alteración en la dentina en mínimo un punto de la misma (Tabla 23 y Gráficos 6-9). Además, mientras que cuando los dientes estaban alterados en la dentina oclusal lo más frecuente era encontrar una alteración leve, en la dentina media y profunda lo más habitual era encontrar una alteración moderada, y en la dentina pulpar una alteración severa. Estos hallazgos revelan que la dentina parece afectarse más según se avanza hacia el tejido pulpar, y, por lo tanto, que estaría más afectada según se avanza temporalmente, ya que la dentina se forma desde el exterior al interior. Los hallazgos más frecuentes fueron la heterogeneidad en el diámetro o dirección tubular, así como la disminución del número de túbulos dentinarios. En un sujeto con OI tipo I se encontraron inclusiones gigantes ovoideas en la dentina más cercana al tejido pulpar (Figura 16).

Con respecto a la dentina oclusal (Gráfico 6), los dientes que más afectados se vieron fueron los de OI tipo IV (75%), seguidos de OI tipo III (60%) y OI tipo I (9,1%); lo más frecuente cuando estuvieron afectados fue la alteración leve en los tipos I y IV, mientras que en los del tipo III se repartían entre alteración leve y severa, con un 30% de afectación cada uno. La dentina media (Gráfico 7) se observó alterada en todos los dientes procedentes de la muestra de estudio, siendo lo más frecuente en la alteración moderada en la OI tipo I (72,7%) y III (50%), y estando entre una alteración moderada y severa en la OI tipo IV (50% en las dos categorías). En la dentina profunda (Gráfico 8) lo más frecuente en los dientes con OI tipo I y IV fue encontrar una alteración moderada (36,4% y 50% respectivamente), mientras que la OI tipo III la alteración más frecuente fue la severa (60%). Por último, en la dentina pulpar (Gráfico 9) la alteración más frecuente fue severa, con un 45,5% en los dientes de OI tipo I y un 80% en los de OI tipo III, mientras que en los dientes con OI tipo IV lo más frecuente fue encontrar una alteración moderada (50%). Como puede observarse, los dientes de OI tipo I tienen una frecuencia de afectación dentinaria menor que los otros tipos de OI, que se corresponden con un fenotipo más severo de la enfermedad.

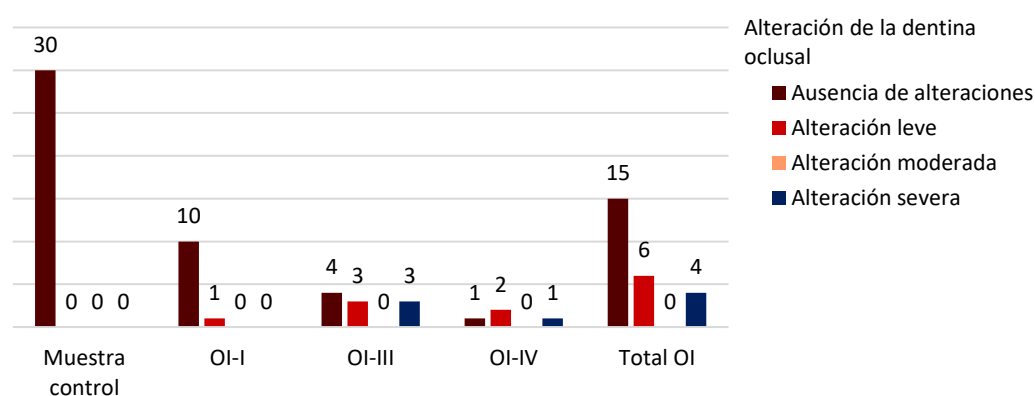


Gráfico 6. Frecuencias de la alteración de la dentina oclusal en la muestra control y de estudio.

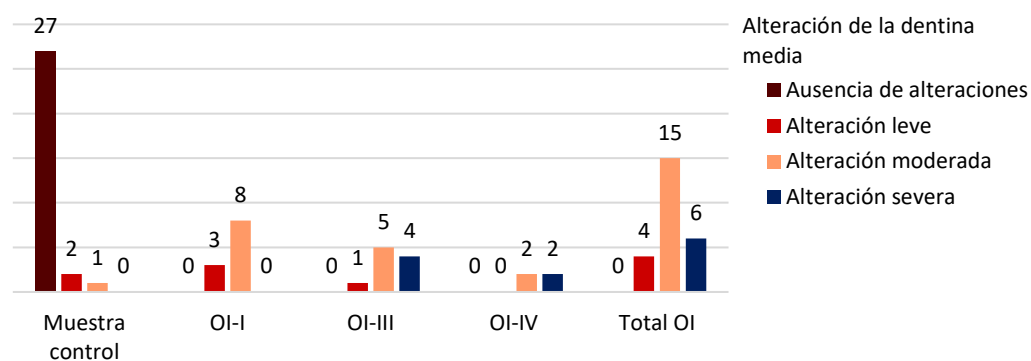


Gráfico 7. Frecuencias de la alteración de la dentina media en la muestra control y de estudio.

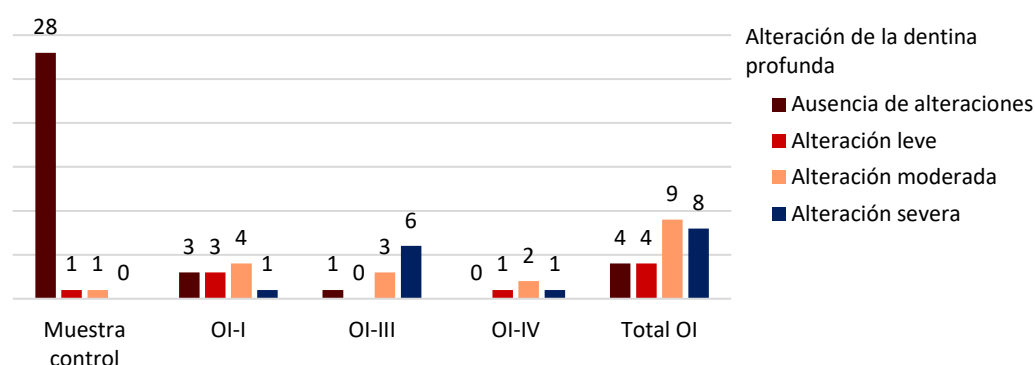


Gráfico 8. Frecuencias de la alteración de la dentina profunda en la muestra control y de estudio.

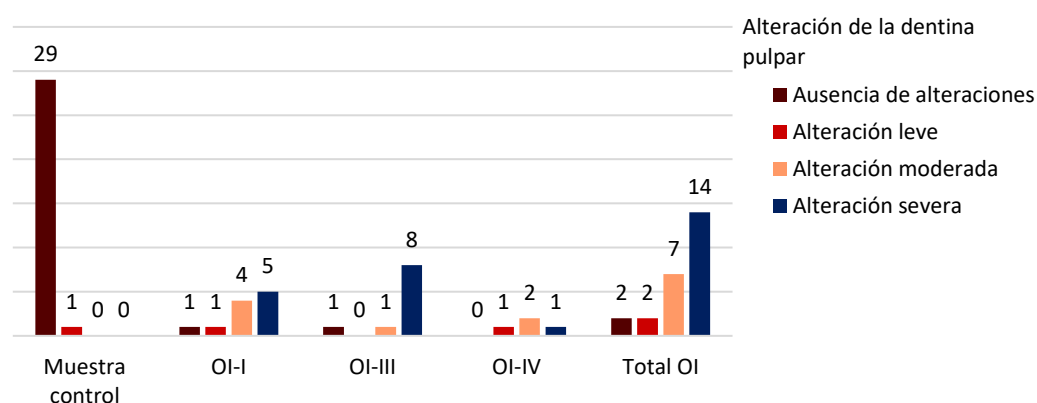


Gráfico 9. Frecuencias de la alteración de la dentina pulpar en la muestra control y de estudio.

	OCLUSAL				MEDIA			
	Ausencia de alteraciones	Alteración leve	Alteración moderada	Alteración severa	Ausencia de alteraciones	Alteración leve	Alteración moderada	Alteración severa
Muestra control								
Total	30 (100%)	-	-	-	27 (90%)	2 (6,7%)	1 (3,3%)	-
Muestra de estudio								
OI-I	10 (90,9%)	1 (9,1%)	-	-	-	3 (27,3%)	8 (72,7%)	-
OI-III	4 (40%)	3 (30%)	-	3 (30%)	-	1 (10%)	5 (50%)	4 (40%)
OI-IV	1 (25%)	2 (50%)	-	1 (25%)	-	-	2 (50%)	2 (50%)
Total	15 (60%)	6 (24%)	-	4 (16%)	-	4 (16%)	15 (60%)	6 (24%)
	PROFUNDA				PULPAR			
	Ausencia de alteraciones	Alteración leve	Alteración moderada	Alteración severa	Ausencia de alteraciones	Alteración leve	Alteración moderada	Alteración severa
Muestra control								
Total	28 (93,3%)	1 (3,3%)	1 (3,3%)	-	29 (96,7%)	1 (3,3%)	-	-

Muestra de estudio								
OI-I	3 (27,3%)	3 (27,3%)	4 (36,4%)	1 (9,1%)	1 (9,1%)	1 (9,1%)	4 (36,4%)	5 (45,5%)
OI-III	1 (10%)	-	3 (30%)	6 (60%)	1 (10%)	-	1 (10%)	8 (80%)
OI-IV	-	1 (25%)	2 (50%)	1 (25%)	-	1 (25%)	2 (50%)	1 (25%)
Total	4 (16%)	4 (16%)	9 (36%)	8 (32%)	2 (8%)	2 (8%)	7 (28%)	14 (56%)

Tabla 23. Frecuencias y porcentajes de la alteración de la dentina en la muestra control y de estudio.

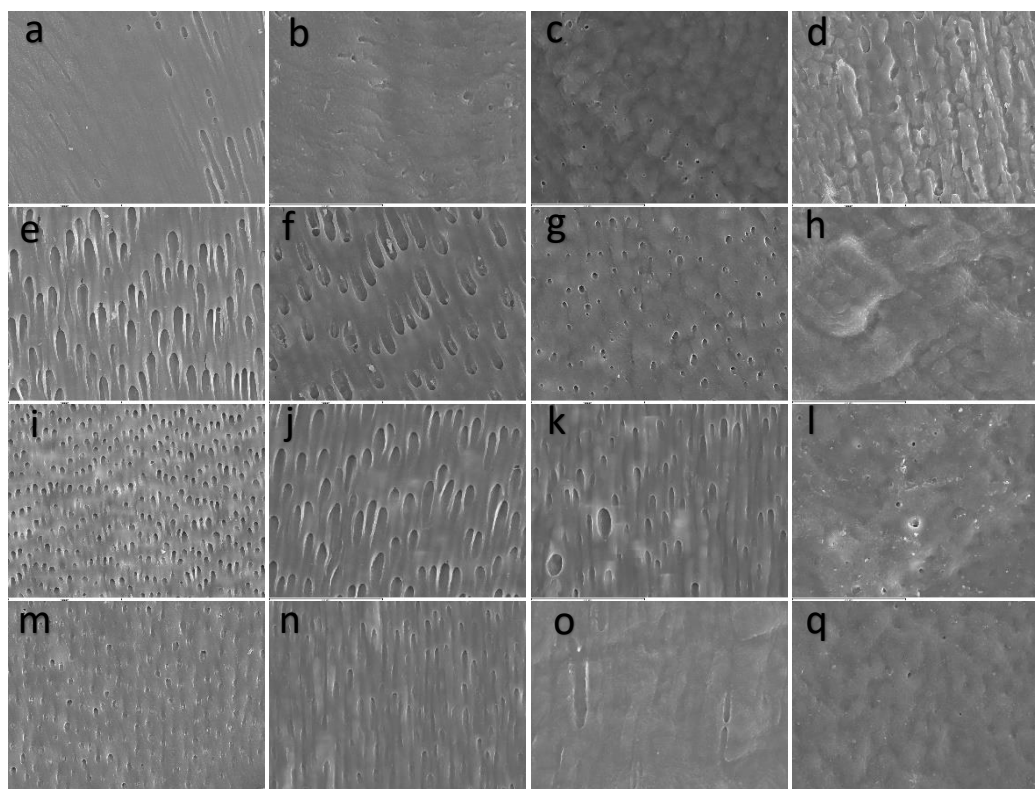


Figura 15. Dentina, microfotografías con MEB con un aumento original de 1000x (a-p) y 500x (q).

- Dentina oclusal (a-d) de un diente control (a), dentina con afectación leve y alteración en la dirección de los túbulos dentinarios (b), dentina con afectación moderada, heterogeneidad en el diámetro y dirección de los túbulos dentinarios y aspecto cerebroide (c) y dentina con afectación severa, tejido amorfo atubular y de aspecto cerebroide (d).
- Dentina media (e-h) de un diente control (e) sin afectación, con afectación leve (f) con heterogeneidad en los diámetros de los túbulos dentinarios, moderada con obliteración parcial de los túbulos dentinarios (g), y afectación severa con presencia de tejido atubular amorfo (h).
- Dentina profunda (i-l) de un diente control (i) con homogeneidad en dirección y diámetro tubular, dentina con afectación leve (j) presentando diámetros ligeramente irregulares, dentina con afectación moderada (k) con presencia de túbulos gigantes, y heterogeneidad en el diámetro de los túbulos dentinarios, y dentina con afectación severa (l) prácticamente atubular y con aspecto amorfo.
- Dentina pulpar (m-p) de un diente control (m) sin alteraciones, de un diente con alteraciones leves (n) con ligeras discrepancias en el diámetro tubular, de un diente con alteraciones moderadas (o) con disminución del patrón tubular y de un diente con alteraciones severas (p) con un patrón atubular y cerebroide.

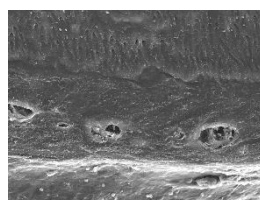


Figura 16. Dentina pulpar de un sujeto con OI tipo I en la que se observan una inclusión de estructuras ovoideas gigantes en la dentina pulpar.

Tras estudiar la afectación de la dentina en 4 puntos se creó la variable genérica afectación de la dentina, utilizando para ello un sumatorio de los cuatro puntos de afectación estudiados previamente. Solamente un 10% de los dientes control mostraron alteraciones de la dentina, correspondiéndose con alteraciones leves y moderadas (Tabla 24 y Gráfico 10). Sin embargo, todos los dientes de la muestra de estudio mostraron alteración en mínimo una localización de la dentina, por lo que todos los dientes procedentes de sujetos con OI se encontraban entre las categorías de alteración de la dentina leve y severa. De forma general, la dentina de los sujetos con OI presentaba una alteración moderada (48%), seguida de la alteración severa (40%) y menos frecuentemente una alteración leve (12%). Si se observan de forma separada los 3 tipos de OI estudiados, es evidente que la alteración severa es la más frecuente en los dientes con OI tipo III (70%) y la menos frecuente en los sujetos con OI tipo I (9,1%), afectando a la mitad de los dientes con OI tipo IV. Por otro lado, la alteración moderada es más frecuente en los dientes de sujetos con OI tipo I (72,7%) que en los dientes con OI tipo IV (50%) o tipo III (20%). Como puede observarse, la severidad de la alteración dentinal aumenta al aumentar la severidad de la afectación sistémica.

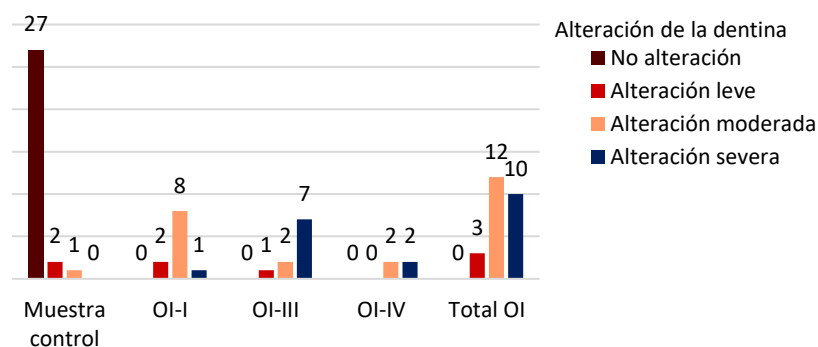


Gráfico 10. Frecuencia de la alteración de la dentina en la muestra control y de estudio.

	No alteración	Alteración leve	Alteración moderada	Alteración severa
Muestra control				
Total	27 (90%)	2 (6,7%)	1 (3,3%)	-
Muestra de estudio				
OI-I	-	2 (18,2%)	8 (72,7%)	1 (9,1%)
OI-III	-	1 (10%)	2 (20%)	7 (70%)
OI-IV	-	-	2 (50%)	2 (50%)
Total	-	3 (12%)	12 (48%)	10 (40%)

Tabla 24. Frecuencias y porcentajes de la alteración de la dentina en la muestra control y de estudio.

Descripción de la densidad y el diámetro tubular

Para el recuento de túbulos dentinarios, túbulos por mm², se diferenció entre patrón de corte tubular longitudinal y transversal, puesto que la medición de la variable dependía de la dirección de los túbulos dentinarios y del corte efectuado sobre ellos. En primer lugar, se llevó a cabo una evaluación, mediante el test de efectos entre sujetos, para determinar si el tipo de diente influía en el recuento tubular, encontrando que sí que ejercía influencia sobre el número de túbulos medidos en la región de dentina oclusal longitudinal (p 0,046), dentina profunda longitudinal (p 0,032) y dentina pulpar longitudinal (p 0,028). Sin embargo, al encontrarse solamente en aquellos dientes con un patrón de corte tubular longitudinal se consideró que era

un resultado derivado del método de corte y no que el tipo de diente ejerciera un papel importante en el recuento tubular, ya que de ser así también se observaría esta diferencia en aquellos con corte tubular transversal. Por ello se consideró que no era necesario hacer una distinción entre el tipo de diente para analizar el recuento tubular.

En el patrón de corte tubular longitudinal puede observarse que a nivel general los valores de recuento tubular medio son superiores a los valores del grupo control en los 4 puntos de la dentina estudiados, y en la valoración general de la dentina. En la dentina oclusal y pulpar están aumentadas las medidas tanto en los sujetos con OI tipo I como III; sin embargo, en la dentina media y profunda mientras que los dientes de sujetos con OI tipo I tienen un recuento tubular superior al grupo control, en los procedentes de sujetos con OI tipo III se encuentra un recuento tubular inferior (Tabla 25 y Gráfico 11).

En el patrón de corte transversal, a nivel general el recuento de túbulos es menor en el grupo de estudio que en el control; solamente encontramos aumentado respecto al grupo control el recuento tubular de la dentina oclusal, mientras que en los otros tres puntos estudiados se encuentra disminuido. Diferenciando por tipos de OI, los dientes procedentes de sujetos con OI tipo I presentan solamente un recuento tubular inferior al grupo control solamente en la dentina pulpar; por otro lado, los dientes de sujetos con OI tipo III y IV presentan un recuento inferior al grupo control en la dentina media, profunda y pulpar. En la dentina oclusal todos los tipos de OI presentaron un recuento tubular superior al grupo control (Tabla 26 y Gráfico 12).

Derivado de los resultados, parece que en la dentina oclusal se encuentra un mayor número de túbulos dentinarios en el grupo OI que en la muestra de dientes sanos, no pudiendo establecerse un patrón en el resto de áreas de la dentina examinadas, debido a la discrepancia encontrada entre el patrón de corte tubular longitudinal y transversal.

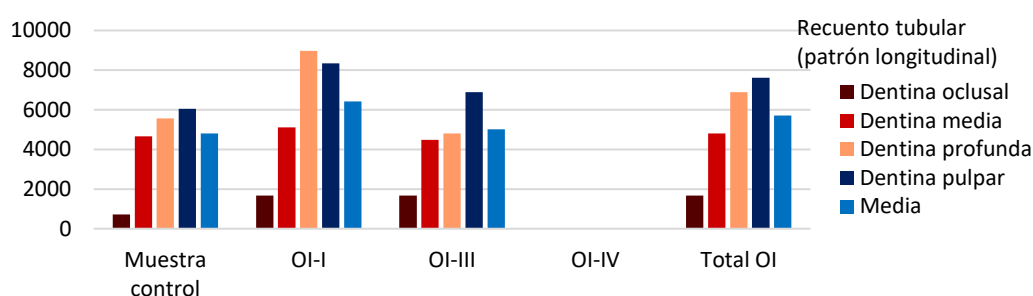


Gráfico 11. Recuento tubular (patrón longitudinal) de la muestra control y de estudio, medido en túbulos/mm².

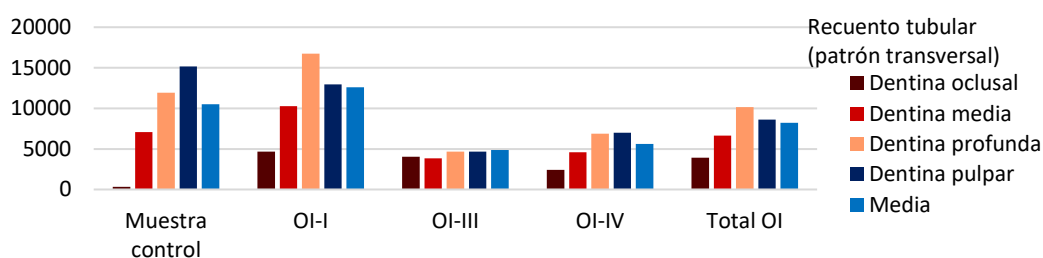


Gráfico 12. Recuento tubular (patrón transversal) de la muestra control y de estudio, medido en túbulos/mm².

Recuento tubular (patrón longitudinal)										
	Dentina oclusal		Dentina media		Dentina profunda		Dentina pulpar		Media de la dentina	
	Media	DS*	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Muestra control (n=18)										
Total	718,84	819,99	4.660,86	2.105,29	5.565,21	2.429,57	6.052,16	2.784,34	4.813,52	1.665,51
Muestra de estudio (n=8)										
OI-I	1.669,56	2.286,14	5.113,03	2.370,32	8.973,89	4.236,05	8.347,81	3.356,47	6.426,07	2.648,56
OI-III	1.669,56	2.182,17	4.486,95	1.500,09	4.799,99	3.878,21	6.886,94	5.218,77	5.008,68	2.671,40
OI-IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	1.669,56	2.068,99	4.799,99	1.866,63	6.886,94	4.371,94	7.617,37	4.136,47	5.717,38	2.576,59
Recuento tubular (patrón transversal)										
	Dentina oclusal		Dentina media		Dentina profunda		Dentina pulpar		Media de la dentina	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Muestra control (n=12)										
Total	313,04	619,73	7.060,85	3.130,85	11.930,4	7.441,98	15.165,18	7.473,57	10.498,53	4.554,90
Muestra de estudio (n=17)										
OI-I	4.650,92	3.453,92	10.255,8	5.284,33	16.755,2	7.130,04	12.939,1	13.655,32	12.596,25	5.144,49
OI-III	4.034,77	4.907,96	3.826,08	4.067,50	4.660,86	6.226,91	4.660,86	8.370,39	4.869,55	4.574,19
OI-IV	2.399,99	2.345,69	4.591,29	4.997,08	6.886,94	3.582,43	6.991,29	4.066,43	5.608,68	2.375,48
Total	3.903,83	3.721,40	6.653,69	5.482,91	10.164,68	8.163,08	8.617,88	10.470,12	8.225,05	5.640,39

Tabla 25. Recuento tubular de la muestra control y de estudio, medido en túbulos/mm².

*DS. Desviación Estándar.

Para la medición del diámetro tubular, medido en μm , se diferencié entre patrón de corte longitudinal y transversal, de igual manera que para el recuento tubular. Debido a que se determinó que el tipo de diente no ejercía efecto sobre el diámetro de los túbulos mediante el test de efectos entre sujetos ($p > 0,05$ en todos los casos), no se llevó a cabo la diferenciación entre el tipo de diente.

En el patrón de corte longitudinal la media del diámetro tubular de la dentina fue ligeramente inferior en el grupo estudio (2,64 μm) que en la muestra control (2,82 μm), siendo ligeramente superior solo en la dentina media, e inferior en la dentina oclusal, profunda y pulpar. Con respecto al tipo de OI, en la dentina profunda y pulpar todos los dientes presentaron valores inferiores al grupo control; sin embargo, en la dentina oclusal el grupo de OI tipo I presentó un diámetro tubular superior al grupo control, y en la dentina media, el grupo de OI tipo III resultó tener un valor de diámetro tubular superior al de pacientes sanos (Tabla 26 y Gráfico 13).

En el patrón de corte transversal, la media del diámetro tubular de la dentina del grupo de estudio (2,32 μm) fue inferior al del grupo control (2,44 μm), ya que salvo en la dentina oclusal, en donde el diámetro tubular era mayor que en el grupo control, en los demás puntos de estudio de la dentina el diámetro medio de los túbulos dentinarios fue inferior en el grupo con OI que en el grupo control. Los dientes de sujetos con OI tipo I presentaron diámetros tubulares mayores al grupo control en la dentina oclusal y profunda, iguales en la dentina media y menores en la dentina pulpar; mientras que los procedentes de sujetos con OI tipo IV presentaron diámetros mayores en todas las áreas estudiadas excepto la dentina media, que era menor, y los dientes de sujetos con OI tipo III solamente obtuvieron valores superiores al grupo control en la dentina oclusal, siendo inferior al grupo control en el resto de áreas estudiadas (Tabla 26 y Gráfico 14).

Los anteriores resultados aparentemente muestran que en las regiones externas de los dientes con OI el diámetro de los túbulos dentinarios puede llegar a ser superior al del grupo control, obliterándose y, por lo tanto, disminuyendo su tamaño a medida que se avanza hacia el tejido pulpar.

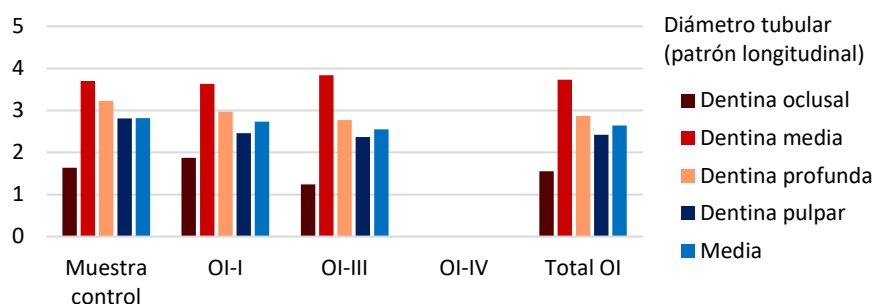


Gráfico 13. Diámetro tubular (patrón longitudinal) de la muestra control y de estudio, medido en μm .

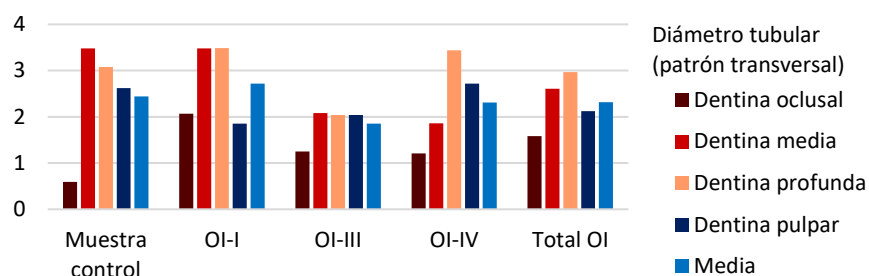


Gráfico 14. Diámetro tubular (patrón transversal) de la muestra control y de estudio, medido en μm .

Diámetro tubular (patrón longitudinal)										
	Dentina oclusal		Dentina media		Dentina profunda		Dentina pulpar		Media	
	Media	DS*	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Muestra control (n=18)										
Total	1,64	1,43	3,70	0,56	3,23	0,74	2,81	0,79	2,82	0,64
Muestra de estudio (n=8)										
OI-I	1,87	1,81	3,63	0,95	2,97	1,04	2,46	0,85	2,73	0,95
OI-III	1,24	1,44	3,84	0,64	2,77	1,08	2,37	0,39	2,55	0,57
OI-IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	1,55	1,55	3,73	0,76	2,87	0,99	2,42	0,61	2,64	0,73
Diámetro tubular (patrón transversal)										
	Dentina oclusal		Dentina media		Dentina profunda		Dentina pulpar		Media	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Muestra control (n=12)										
Total	0,59	0,87	3,48	0,58	3,08	0,65	2,62	0,61	2,44	0,38
Muestra de estudio (n=17)										
OI-I	2,07	1,04	3,48	0,52	3,49	0,56	1,85	1,38	2,72	0,65
OI-III	1,25	1,25	2,08	2,17	2,04	1,18	2,04	0,8	1,85	0,95
OI-IV	1,21	0,94	1,86	1,49	3,44	1,3	2,72	0,56	2,31	1
Total	1,58	1,12	2,61	1,6	2,97	1,17	2,12	1,05	2,32	0,88

Tabla 26. Diámetro tubular de la muestra control y de estudio, medido en μm .

*DS. Desviación Estándar.

Se estudió la normalidad de la distribución de las variables recuento y diámetro tubular (Tabla 27). Aunque la mayoría de las distribuciones numéricas cumplían criterios de normalidad, algunas no seguían una distribución normal. Los grupos que no cumplieron criterios de normalidad para la variable recuento tubular fueron en el patrón de corte longitudinal la dentina oclusal tanto para la muestra estudio como control, la dentina media para el grupo estudio y la dentina pulpar para el grupo control; así, en el patrón transversal no cumplieron criterios de normalidad la dentina oclusal para el grupo control, la dentina media para el grupo de OI tipo III, la dentina profunda para el grupo de OI tipo III y la dentina pulpar para el grupo de estudio y el de OI tipo III. Para la variable diámetro tubular no cumplieron criterios de normalidad en el patrón longitudinal la dentina oclusal y profunda en el grupo control, y la media de la dentina para el grupo de OI tipo I; mientras que en el patrón de corte transversal no siguieron una distribución normal la dentina oclusal para el grupo control. Todas las demás variables cumplieron criterios de normalidad.

Recuento tubular										
	Patrón longitudinal. Sig. ^a					Patrón transversal. Sig.				
	Dentina oclusal	Dentina media	Dentina profunda	Dentina pulpar	Media de la dentina	Dentina oclusal	Dentina media	Dentina profunda	Dentina pulpar	Media de la dentina
Muestra control										
Total	0,005*	0,068	0,158	0,029*	0,127	<0,001*	0,252	0,088	0,423	0,978
Muestra de estudio										
OI-I	0,138	0,233	0,389	0,827	0,758	0,650	0,372	0,719	0,344	0,527
OI-III	0,256	0,163	0,519	0,532	0,493	0,170	0,020*	0,005*	<0,001*	0,070
OI-IV	-	-	-	-	-	0,858	0,625	0,511	0,966	0,803
Total	0,028*	0,048*	0,769	0,682	0,671	0,084	0,230	0,122	0,002*	0,212
Diámetro tubular										
	Patrón longitudinal. Sig.					Patrón transversal. Sig.				
	Dentina oclusal	Dentina media	Dentina profunda	Dentina pulpar	Media de la dentina	Dentina oclusal	Dentina media	Dentina profunda	Dentina pulpar	Media de la dentina
Muestra control										
Total	0,002*	0,839	0,090*	0,678	0,938	<0,001*	0,199	0,487	0,085	0,163
Muestra de estudio										
OI-I	0,538	0,610	0,376	0,703	0,024*	0,262	0,085	0,470	0,274	0,585
OI-III	0,092	0,996	0,932	0,370	0,466	0,540	0,255	0,682	0,551	0,383
OI-IV	-	-	-	-	-	0,412	0,983	0,104	0,961	0,494
Total	0,262	0,625	0,265	0,950	0,079	0,114	0,199	0,487	0,085	0,163

Tabla 27. Pruebas de normalidad con el Test de Shapiro-Wilk para las variables recuento y diámetro tubular.

^aSignificación del Test de Shapiro-Wilk con la corrección de Lilliefors

*p<0.005. Significación estadística.

Descripción de la cantidad de calcio y fósforo presente en la dentina

Se llevó a cabo el test de efectos entre sujetos para determinar si el tipo de diente (incisivo, canino y molar) afecta a la cantidad de calcio y fósforo, siendo en todos casos no significativo ($p > 0,05$), por lo que confirmamos que la cantidad de mineral dentaria no varía en función del diente estudiado y por lo tanto no es necesaria la estratificación de los datos dependiendo del tipo de diente.

Los valores medios de calcio (3,79 cps) en la dentina de los sujetos con OI son menores que los del grupo control (4,72 cps). En la dentina pulpar los valores de calcio del grupo con OI fueron mayores que en el grupo control, aunque en los demás puntos de la dentina estudiados se encontró una menor cantidad de calcio en el grupo de estudio. Los dientes de sujetos con OI tipo I mostraron una cantidad de calcio menor que los dientes sanos en todos los puntos estudiados, pero los dientes de sujetos con OI tipo III mostraron valores superiores de calcio en la dentina profunda, y los procedentes de sujetos con OI tipo IV en la dentina profunda y pulpar (Tabla 28 y Gráfico 15).

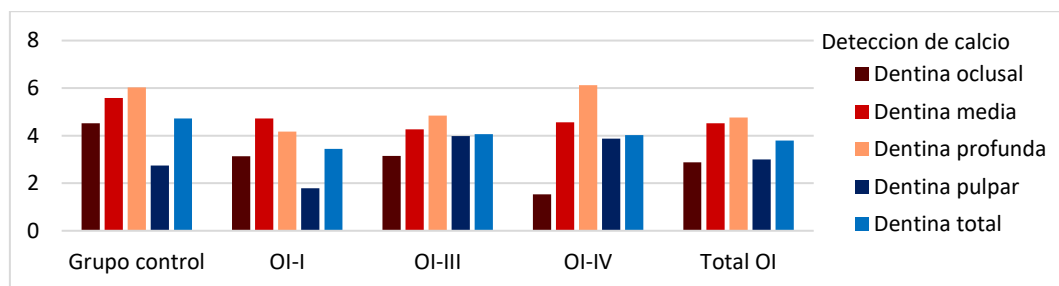


Gráfico 15. Detección de calcio en la muestra control y de estudio. Medido en cps.

Detección de calcio										
	Dentina oclusal		Dentina media		Dentina profunda		Dentina pulpar		Dentina total	
	Media	DS*	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Muestra control										
Total	4,52	3,93	5,59	5,10	6,03	5,70	2,74	2,89	4,72	3,88
Muestra de estudio										
OI-I	3,13	1,30	4,72	3,43	4,17	2,65	1,79	1,65	3,45	1,58
OI-III	3,15	2,31	4,27	4,18	4,85	6,72	3,98	4,53	4,06	4,17
OI-IV	1,53	0,62	4,56	6,48	6,12	5,67	3,87	3,8	4,02	3,87
Total	2,88	1,76	4,52	4,09	4,76	4,94	3,00	3,44	3,79	3,08

Tabla 28. Detección de calcio en la muestra control y de estudio. Medido en cps.

*DS: Desviación Estándar

La detección del fósforo se llevó a cabo de la misma manera que la detección del calcio. Se encontró una menor cantidad de fósforo en el grupo de estudio (3,70 cps) que en el grupo control (6,11 cps), encontrándose disminuido en los 4 puntos de la dentina estudiados. Todos los tipos de OI presentaron una cantidad de fósforo menor que el grupo control (Tabla 29 y Gráfico 16).

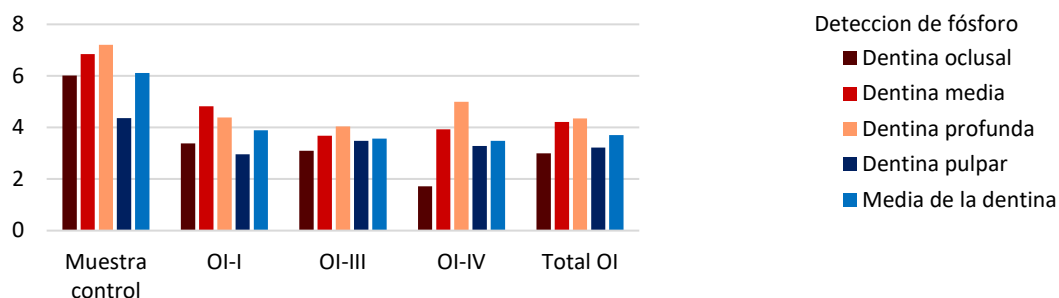


Gráfico 16. Detección de fósforo en la muestra control y de estudio. Medido en cps.

Detección de fósforo										
	Dentina oclusal		Dentina media		Dentina profunda		Dentina pulpar		Media de la dentina	
	Media	DS*	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Muestra control										
Total	6,01	4,44	6,85	5,36	7,21	6,32	4,36	3,76	6,11	4,65
Muestra de estudio										
OI-I	3,38	0,93	4,82	2,98	4,39	2,61	2,96	2,87	3,89	1,61
OI-III	3,10	2,30	3,68	3,23	4,04	4,86	3,48	3,39	3,57	3,32
OI-IV	1,72	0,69	3,93	5,29	5,00	4,48	3,28	3,01	3,48	3,26
Total	3,00	1,66	4,22	3,38	4,35	3,78	3,22	2,99	3,70	2,56

Tabla 29. Detección de fósforo en la muestra control y de estudio. Medido en cps.

*DS: Desviación Estándar

Se llevó a cabo la prueba de Shapiro-Wilk para estudiar la normalidad de la muestra control y de estudio, con respecto a la detección de calcio y fósforo, obteniéndose que en prácticamente todos los grupos la distribución de las variables no seguía una distribución normal (Tabla 30). Para la variable de detección de calcio solamente se encontró una distribución de datos normal en la dentina oclusal, profunda, pulpar y media de la dentina para el grupo de OI tipo IV. Para la variable detección de fósforo solo siguieron una distribución normal la variable en la dentina oclusal para todos los tipos de OI, en la dentina profunda, pulpar y media de la dentina para el grupo de OI tipo IV, y en la media de la dentina para el grupo de OI tipo I.

	Detección calcio					Detección fosforo				
	Sig. ^a					Sig.				
	Dentina oclusal	Dentina media	Dentina profunda	Dentina pulpar	Media de la dentina	Dentina oclusal	Dentina media	Dentina profunda	Dentina pulpar	Media de la dentina
Muestra control										
Total	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,002*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
Muestra de estudio										
OI-I	<0,001*	<0,001*	0,039*	<0,001*	0,024*	0,132	0,014*	0,022*	<0,001*	0,252
OI-III	0,048*	0,021*	<0,001*	0,001*	0,003*	0,239	0,033*	0,001*	0,002*	0,006*
OI-IV	0,883	0,017*	0,672	0,374	0,447	0,759	0,012*	0,711	0,271	0,307
Total	0,049*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,232	0,002*	0,001*	<0,001*	0,007*

Tabla 30. Pruebas de normalidad con el Test de Shapiro-Wilk para las variables detección de calcio y fósforo.

^aSignificación estadística del Test de Shapiro-Wilk con la corrección de Lilliefors

Análisis comparativo entre la muestra de estudio control y la muestra control.

Para poder establecer si las diferencias obtenidas previamente entre los diferentes grupos de estudio son significativas o debidas a efectos del azar, se efectuaron procedimientos de estadística inferencial. Para las variables cualitativas, debido al pequeño tamaño muestral, se llevó a cabo el test exacto de Fisher. Para las variables cuantitativas, debido a que en varios de los grupos no se cumplieron criterios de normalidad en la distribución numérica, se optó por el uso de tests no paramétricos para muestras independientes, el Test U de Mann-Whitney y el Test de Kruskal-Wallis. En aquellas variables cuantitativas que resulten estadísticamente significativas se llevará a cabo el Test post-hoc de Bonferroni de comparaciones pareadas, para determinar entre qué grupos existe la diferencia relevante.

Estudio de los hallazgos en el esmalte, dentina y unión amelodentinaria

Las diferencias encontradas en la afectación del esmalte entre los diferentes grupos de estudio (dientes de sujetos con OI y dientes sanos) son significativas al 95% (p Fisher $<0,001$). De este modo, la presencia de alteraciones leves (24%) y moderadas (32%) del esmalte en el grupo de estudio es significativamente superior al grupo control, mientras que la ausencia de alteraciones en el grupo de OI (40%) está muy disminuida con respecto al grupo de dientes sanos (96,7%). Además, las diferencias de la muestra control con respecto al tipo de OI también resultaron significativas (p Fisher $<0,001$). De esta forma, resulta relevante con respecto al grupo control el gran porcentaje de alteraciones leves en dientes con OI tipo I (45,5%), mientras que en la OI tipo III predominan las alteraciones moderadas (40%) y en el tipo IV las alteraciones moderadas (50%) y severas (25%). El análisis del esmalte en los diferentes tipos de OI sin el grupo control reveló que no es posible establecer diferencias entre los fenotipos de la OI (p Fisher 0,156)

Las diferencias halladas en la UAD oclusal con respecto al grupo control son significativas (p Fisher 0,004), encontrándose relevante que la ausencia de alteraciones en el grupo de estudio (36%) es significativamente menor que en el grupo control (80%), y la presencia de alteraciones moderadas (28%) en el grupo de OI se considera relevante. Las diferencias entre la UAD oclusal entre el grupo control y los distintos tipos de OI también se consideró significativa (p Fisher 0,017), encontrándose relevante el gran porcentaje de alteraciones moderadas de la UAD oclusal en los dientes con OI tipo IV (50%) y el bajo número de dientes con OI tipo III que no presentaron alteraciones (30%). El estudio de los tipos de OI excluyendo el grupo control no encontró diferencias significativas en la afectación de la UAD oclusal y el tipo de OI (p Fisher 0,956), por lo que no podemos afirmar que existan diferencias entre los diferentes tipos de OI.

Las diferencias entre la afectación de la UAD cervical entre los grupos de estudio son significativas al 95% (p Fisher $<0,001$). La ausencia de alteraciones en el grupo de OI (28%) es significativamente menor al grupo control (86,7%), y la presencia de alteraciones moderadas (44%) tiene una frecuencia de presentación muy superior al grupo control. En la comparación entre el grupo control y los tipos de OI también se encontraron diferencias significativas al 95% (p Fisher $<0,001$). Resulta relevante el gran porcentaje de dientes con OI tipo I que presentaron alteraciones leves (36,4%), y de dientes con OI tipo IV y III con alteraciones moderadas (75% y 60% respectivamente). Además, es llamativo que solamente un 20% de los dientes con OI tipo III no presenten alteraciones de la UAD cervical. El estudio de los tipos de OI sin el grupo control no obtuvo resultados estadísticamente significativos (p Fisher 0,351), por lo que no podemos

establecer que se encuentren diferencias en la afectación de la UAD oclusal con respecto al fenotipo de la enfermedad sistémica.

La dentina oclusal presenta diferencias significativas (p Fisher $<0,001$) entre el grupo control y de estudio. La ausencia de alteraciones (60%) es significativamente inferior al grupo control (100%), mientras que las alteraciones leves (24%) y severas (16%) de la dentina oclusal presentan cifras significativamente superiores a las esperadas. En la comparación entre la muestra control y los tipos con OI se encontraron diferencias significativas (p Fisher $<0,001$), encontrándose relevante la gran presencia de alteraciones leves en los dientes con OI tipo IV (50%) y III (30%), y alteraciones severas en los dientes de OI tipo III (30%). El análisis de los tipos de OI sin el grupo control demostró la presencia de diferencias significativas al 95% entre los tres tipos de OI (p Fisher 0,039), por lo que se puede afirmar que existen diferencias en la afectación de la dentina oclusal entre los tres tipos de OI; siendo relevante que el 90,9% de los dientes con OI tipo I no presenten alteraciones a éste nivel, en comparación con dientes con OI tipo III (40%) y IV (25%).

La dentina media presenta diferencias con respecto al grupo control de forma significativa (p Fisher $<0,001$). Así, que ningún diente con OI se presente libre de afectación a ese nivel es relevante en comparación con el grupo control (90%). Además, el grupo con OI presenta un mayor número de alteraciones moderadas (60%) y severas (24%) con respecto al grupo control. Al comparar la muestra de estudio con la muestra control se encuentra significativo (p Fisher $<0,001$) la presencia de alteraciones moderadas en los dientes con OI tipo I (72,7%), y alteraciones severas en los dientes con OI tipo III (40%) y IV (50%). El análisis de la dentina media en los tipos de OI, excluyendo el grupo control, indicó que las diferencias encontradas entre los diferentes tipos de la enfermedad sistémica no son significativas (p Fisher 0,090), y por lo tanto no se puede afirmar que existan diferencias entre ellos.

La dentina profunda se mostró significativamente más alterada en el grupo de OI que en el grupo control (p Fisher $<0,001$). La ausencia de alteraciones a este nivel fue infrecuente en el grupo de estudio (16%) en comparación con el grupo control (93,3%), además de encontrarse un gran porcentaje de alteraciones moderadas (36%) y severas (32%) en los dientes procedentes del grupo con OI. Con respecto a los tipos de OI, también se encuentran relevantes las diferencias encontradas con respecto al grupo control (p Fisher $<0,001$). El grupo de dientes con OI tipo I presenta un gran porcentaje de alteraciones leves (27,3%) con respecto al grupo control, mientras que los dientes con OI tipo III presentan una incidencia de alteraciones severas muy elevado (60%). Tanto los dientes procedentes de sujetos con OI del tipo III, como los del IV, presentan un porcentaje de ausencia de alteraciones muy inferior al grupo control (10% y 0% respectivamente). El análisis de la dentina pulpar en los tipos de OI, sin tener en cuenta el grupo control, aportó unos resultados sin significación estadística (p Fisher 0,149), por lo que se establece que no existen diferencias en la afectación de la dentina profunda entre los tres tipos de OI.

La afectación de la dentina pulpar presentó diferencias significativas con respecto al grupo control (p Fisher $<0,001$). Solamente un bajo porcentaje de los dientes de sujetos con OI no presentaron alteraciones a este nivel (8%), mientras que la presencia de alteraciones moderadas (28%) y severas (56%) fue significativamente elevada. La comparación entre los tipos de OI y el grupo control ofreció diferencias significativas al 95% (p Fisher $<0,001$), ya que el grupo de OI tipo I y IV presentaban un porcentaje elevado de alteraciones moderadas (36,4% y 50% respectivamente), mientras que lo más frecuente en los dientes de OI tipo III fueron las alteraciones severas (80%). La ausencia de alteraciones de la dentina pulpar en los tres tipos de

OI fue significativamente menor que en el grupo control. Al analizar los tipos de OI excluyendo el grupo control no se hallaron resultados significativos (p Fisher 0,249), lo que indica que no existen diferencias en la afectación pulpar entre los tipos de OI.

El estudio de la variable afectación de la dentina reveló diferencias significativas al 95% entre el grupo control y el grupo de estudio (p Fisher $<0,001$), ya que la presencia de alteraciones moderadas (3,3%) y severas (0%) de la dentina fue infrecuente en el grupo control, y muy frecuente en el grupo de estudio (48% y 40% respectivamente). Al analizar la afectación de la dentina en comparación con el grupo control se encontraron diferencias significativas (p Fisher $<0,001$) ya que los tres tipos de OI presentaron un bajo porcentaje de afectación leve de la dentina, mientras que se encontró un gran porcentaje de afectación moderada en los dientes de sujetos con OI tipo I (72,7%) y de afectación severa en los dientes con OI tipo III (70%) en comparación con la muestra control. Además, los resultados indican que existe una diferencia significativa entre los tipos de OI (p Fisher 0,029), por lo que sí que existe una mayor alteración morfológica dental en aquellos dientes procedentes de sujetos con un fenotipo más severo de OI.

	Muestra control – Muestra de estudio (OI)	Muestra control – Tipos de OI	Tipos de OI (excluyendo muestra control)
	Sig. ^a	Sig.	Sig.
Esmalte			
	$<0,001^*$	$<0,001^*$	0,156
Unión amelodentinaria			
Oclusal	0,004*	0,017*	0,956
Cervical	$<0,001^*$	$<0,001^*$	0,351
Dentina			
Oclusal	$<0,001^*$	$<0,001^*$	0,012*
Media	$<0,001^*$	$<0,001^*$	0,090
Profunda	$<0,001^*$	$<0,001^*$	0,149
Pulpar	$<0,001^*$	$<0,001^*$	0,249
Afectación general de la dentina			
	$<0,001^*$	$<0,001^*$	0,029*

Tabla 31. Significación del Test exacto de Fisher para las variables esmalte, UAD y dentina.

^a Significación exacta y bilateral.

* $p < 0,05$. Significación estadística.

Estudio de la densidad o recuento tubular

Las diferencias en el recuento tubular en el patrón de corte longitudinal en la muestra con OI con respecto al grupo control no resultaron estadísticamente significativas al 95% (p U Mann-Whitney $>0,05$), y, por lo tanto, las diferencias encontradas entre los dos grupos no tienen relevancia.

Las diferencias entre el grupo control y los tipos de OI en el patrón de corte longitudinal no resultaron significativas (p Kruskal-Wallis $>0,05$), y, por lo tanto, a pesar de que existen diferencias numéricas, no podemos establecer que las discrepancias sean relevantes (Tabla 33).

No se encontraron diferencias significativas al 95% en la densidad tubular entre los tres tipos de OI (excluyendo al grupo control) en el patrón de corte longitudinal (p U Mann-Whitney $>0,05$), y, por lo tanto, no podemos determinar que existan diferencias en el recuento tubular dependiendo de la severidad de la OI cuando los túbulos se observan longitudinalmente.

Patrón longitudinal			
Muestra control – Muestra de estudio		Muestra control – Tipos de OI	Tipos de OI
Sig. ^a		Sig. ^b	Sig. ^a
Recuento tubular			
Dentina oclusal	0,461	0,730	0,886
Dentina media	1	0,989	1
Dentina profunda	0,495	0,222	0,343
Dentina pulpar	0,311	0,406	0,686
Dentina total	0,461	0,419	0,486

Tabla 32. Significación del Test no paramétrico de U de Mann-Whitney y Test Kruskal-Wallis para muestras independientes para la variable recuento tubular y patrón longitudinal.

^aSignificación exacta y asintótica del Test de U de Mann-Whitney

^bSignificación asintótica del Test de Kruskal-Wallis

*p<0,05. Significación estadística.

El recuento de túbulos dentinarios en el patrón longitudinal siguió una curva similar en el grupo de estudio y el grupo control, no existiendo diferencias significativas al 95% (G-G p 0,611) en el comportamiento de los grupos de estudio en los puntos medidos en el recuento tubular (Gráfico 17a). Se encontraron diferencias relevantes en la muestra total (G-G p <0,001) entre la dentina oclusal y los demás puntos de estudio, y entre la dentina media y profunda. Sin embargo, no se encontraron diferencias en los puntos de la dentina estudiados y los grupos de estudio (Test de efectos intersujetos p 0,22).

Con respecto al tipo de OI, la curva del recuento tubular siguió conservando una forma similar (G-G p 0,36), por lo que asumimos un comportamiento igual en los dos grupos de estudio (Gráfico 17b). Así, existen diferencias entre la dentina oclusal y los demás puntos de estudio de la dentina, y entre la dentina media y profunda (G-G p <0,001) en la muestra total; pero no entre los diferentes puntos y los distintos tipos de OI (Test de efectos intersujetos p 0,238).

Por lo tanto, podemos determinar que, en cuanto al recuento tubular, en el patrón longitudinal se comportan igual el grupo control y de estudio, produciéndose una disminución en el número de túbulos por área de estudio al alejarse del tejido pulpar. Además, no existen diferencias entre los tipos de OI en el comportamiento del recuento tubular.

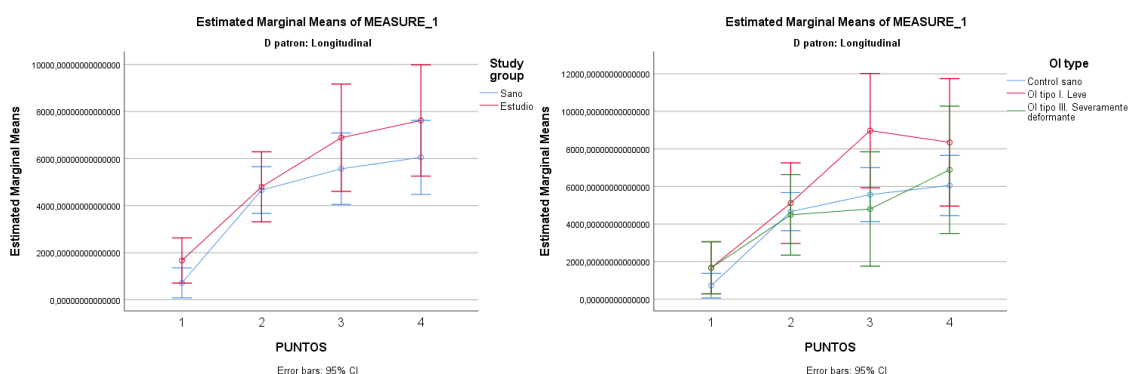


Gráfico 17. Curva de comportamiento del recuento tubular en los 4 puntos de la dentina estudiados en el patrón de corte tubular longitudinal con respecto al grupo control (a) y con respecto a los tipos de OI y el grupo control (b). No existen diferencias significativas en el comportamiento con respecto al grupo control (p >0,05).

Por otro lado, en el patrón de corte tubular transversal, se encuentran diferencias significativas estadísticamente en algunos puntos de la dentina analizados al comparar la muestra de estudio y la muestra control. El recuento tubular en la dentina oclusal resultó mayor en el grupo con OI (3.903,83 túbulos/mm²) con respecto al grupo control (313,04 túbulos/mm²) en la dentina oclusal, y se obtuvo un menor recuento tubular en la dentina pulpar en el grupo de estudio (8.617 túbulos/mm²) con respecto a los dientes sanos (15.165,18 túbulos/mm²), resultando significativo la diferencia en ambos casos (p U Mann-Whitney 0,003 y 0,027 respectivamente). De estos resultados puede deducirse que en los dientes procedentes de sujetos con OI hay un aumento de la densidad tubular en la dentina más externa y una disminución en la dentina más interna con respecto a los dientes control (Tabla 33).

Además, al analizar la muestra con OI respecto a la muestra control, se observaron diferencias estadísticamente significativas en el recuento tubular de la dentina oclusal (p Kruskal-Wallis 0,020), dentina profunda (p Kruskal-Wallis 0,013) y dentina total (p Kruskal-Wallis 0,013). Al analizar con el test Post-Hoc los puntos de la dentina en los que se encontraron diferencias relevantes en el test no paramétrico, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el recuento tubular de la dentina oclusal entre los dientes con OI tipo I (4.650,92 túbulos/mm²) y los controles sanos (313,04 túbulos/mm²) (p Bonferroni 0.019), en la dentina profunda entre los dientes con OI tipo III (4.660,86 túbulos/mm²) y tipo I (16.755,2 túbulos/mm²) (p Bonferroni 0,012) y en la dentina total entre los dientes con OI tipo I (12.596,25 túbulos/mm²) y III (4.869,55 túbulos/mm²) (p Bonferroni 0,035). Con estos resultados podemos afirmar que los pacientes con OI tipo I presentan una mayor densidad tubular general que los sujetos con OI tipo III, presentando además un mayor recuento tubular en la dentina oclusal que los dientes sanos, y en la dentina profunda con respecto a los pacientes con OI tipo III.

En el patrón de corte transversal, al analizar los tres tipos de OI excluyendo al grupo control del estudio, se encontraron diferencias significativas en el recuento tubular en la dentina profunda (p U Mann-Whitney 0,013) y en la dentina total (p U Mann-Whitney 0,017). Al analizar con el test Post-Hoc los resultados significativos anteriores, se encontró una diferencia significativa en el recuento tubular de la dentina profunda entre los dientes con OI tipo III (4.799,99 túbulos/mm²) y tipo I (8.973,89 túbulos/mm²) (p Bonferroni 0,011), el recuento tubular del total de la dentina entre los dientes con OI tipo III (5.008,68 túbulos/mm²) y I (6.426,07 túbulos/mm²) (p Bonferroni 0,023). Estos resultados confirman que los dientes con OI tipo I presentan un mayor recuento tubular en la dentina profunda y en la dentina total con respecto a los pacientes con OI tipo III.

Patrón transversal			
	Muestra control – Muestra de estudio	Muestra control – Tipos de OI	Tipos de OI
	Sig. ^a	Sig. ^b	Sig. ^a
Recuento tubular			
Dentina oclusal	0,003*	0,020*	0,594
Dentina media	0,777	0,142	0,121
Dentina profunda	0,471	0,013*	0,013*
Dentina pulpar	0,027*	0,076	0,269
Dentina total	0,211	0,013*	0,017*

Tabla 33. Significación del Test no paramétrico de U de Mann-Whitney y Test Kruskal-Wallis para muestras independientes para la variable recuento tubular y patrón transversal.

^a Significación exacta y asintótica del Test de U de Mann-Whitney

^b Significación asintótica del Test de Kruskal-Wallis

*p <0,05. Significación estadística.

Los dos grupos de estudio presentaron diferencias significativas en el comportamiento del recuento tubular en el patrón de corte transversal, tanto entre el grupo control y de estudio (p G-G 0,015), como entre el grupo control y los tipos de OI (G-G p 0,034). Por lo tanto, no se pueden llevar a cabo comparaciones entre ellos y hay que observar el comportamiento por cada grupo de estudio.

El grupo control presentó diferencias significativas en el recuento tubular entre los puntos de estudio de la dentina (G-G p <0,001) entre la dentina oclusal y los demás puntos de estudio, además de entre la dentina media y pulpar. En el grupo de estudio (OI) también se encontraron diferencias significativas en los puntos analizados de la dentina (G-G p 0,031), aunque luego en los test Post-Hoc, más conservadores, no se encontraron diferencias significativas, por lo que quedaron descartadas. Se llevó a cabo el estudio del recuento tubular en los tres tipos de OI tipo I, III y IV, hallando que en ninguno de ellos existía una diferencia significativa en el recuento de túbulos dentinales en los puntos analizados de la dentina (G-G p 0,072, G-G p 0,863 y G-G p 0,201 respectivamente).

Los resultados indican, que el recuento tubular en el grupo control sufre un descenso desde el tejido pulpar hacia la zona más externa de la dentina y por el contrario, en el grupo de dientes de sujetos con OI, es inicialmente inferior en la región más cercana a la pulpa y se mantiene prácticamente estable para resultar ligeramente superior al grupo control en la dentina más externa, sobre todo en los casos de OI más leve (OI tipo I), y posteriormente produciéndose una disminución progresiva hasta la UAD.

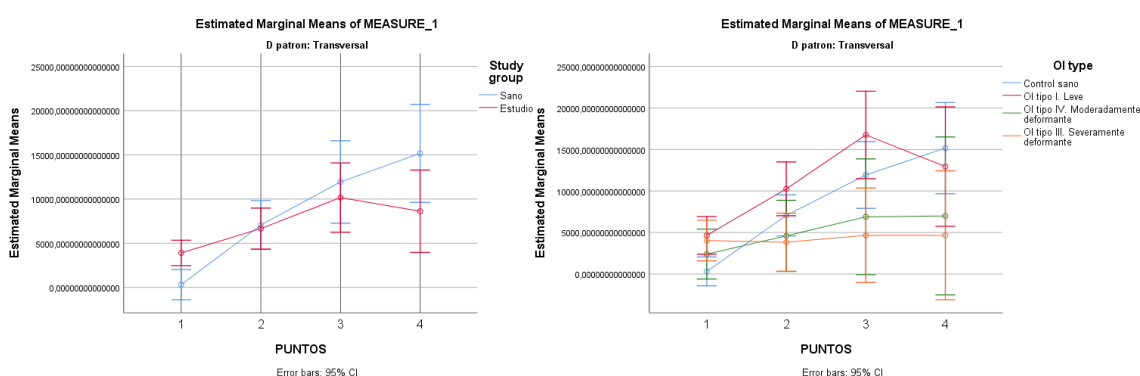


Gráfico 18. Curva de comportamiento del recuento tubular en los 4 puntos de la dentina estudiados en el patrón de corte tubular transversal con respecto al grupo control (a) y con respecto a los tipos de OI y el grupo control (b). Existen diferencias significativas en el comportamiento con respecto al grupo control (p <0,05).

Estudio del diámetro de los túbulos dentinarios

No se encuentra significación estadística en la comparación del diámetro tubular entre el grupo control y el grupo con OI (p U Mann-Whitney >0,05) en el patrón de corte longitudinal, por lo que no se puede establecer que existan diferencias entre ambos grupos (Tabla 34).

Las diferencias entre los tipos de OI y el grupo control tampoco resultaron estadísticamente significativas al 95% (p Kruskal-Wallis >0,05), por lo que no podemos afirmar que las diferencias encontradas entre los grupos de estudio resulten certeras.

No se encontraron diferencias significativas al 95% entre los tipos de OI (excluyendo al grupo control) respecto al diámetro tubular en el corte longitudinal (p U Mann-Whitney $>0,05$) y por lo tanto se presupone que no existen diferencias en el diámetro de túbulos entre los diferentes fenotipos de la OI a este nivel.

Patrón longitudinal			
Muestra control – Muestra de estudio		Muestra control – Tipos de OI	Tipos de OI
Sig. ^a		Sig. ^b	Sig. ^a
Diámetro tubular			
Dentina oclusal	0,683	0,840	0,886
Dentina media	0,807	0,937	1
Dentina profunda	0,605	0,770	0,886
Dentina pulpar	0,238	0,406	0,686
Dentina total	0,765	0,669	0,486

Tabla 34. Significación del Test no paramétrico de U de Mann-Whitney y Test Kruskal-Wallis para muestras independientes para la variable diámetro tubular y patrón longitudinal.

^a Significación exacta y asintótica del Test de U de Mann-Whitney

^b Significación asintótica del Test de Kruskal-Wallis

* $p < 0,05$. Significación estadística.

El estudio del diámetro tubular en el patrón de corte tubular longitudinal indicó que las distribuciones numéricas en el grupo control y de estudio seguían una curva similar (G-G p 0,638). Así, se observan diferencias en los puntos de estudio de la dentina de la muestra total (G-G $p < 0,001$) entre los 4 puntos de estudio de la dentina. Sin embargo, no se encuentran diferencias entre los puntos de estudio de la dentina y el grupo estudiado (Test de efectos intersujetos p 0,483) (Gráfico 19a).

Con respecto al tipo de OI, los grupos estudiados tienen un comportamiento similar a lo largo de la dentina (G-G p 0,787). Se encuentran diferencias significativas (p G-G $< 0,001$) entre los diferentes puntos de estudio de la dentina, en concreto entre la dentina oclusal y la dentina media y profunda, y entre la dentina media con la profunda y pulpar. Sin embargo, no existen diferencias significativas al 95% (Test de efectos intersujetos p 0,736) entre los grupos de estudio (Gráfico 19b).

Estos hallazgos indican que el diámetro tubular sufre un aumento a medida que se aleja del tejido pulpar hasta la dentina media, para luego disminuir en la región más externa de la dentina, sin existir diferencias entre los dientes de sujetos sanos y aquellos con OI.

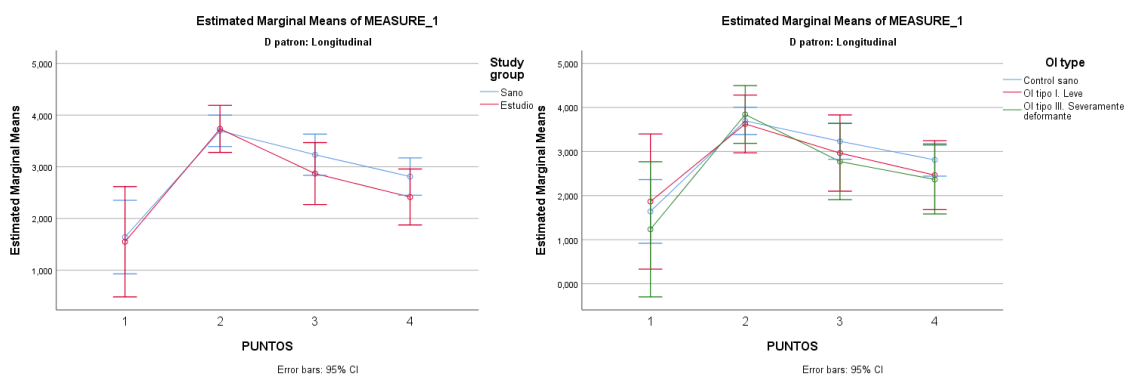


Gráfico 19. Curva de comportamiento del diámetro tubular en los 4 puntos de la dentina estudiados en el patrón de corte tubular longitudinal con respecto al grupo control (a) y con respecto a los tipos de OI y el grupo control (b). No existen diferencias significativas en el comportamiento con respecto al grupo control ($p > 0,05$).

En los dientes en los que los túbulos siguieron un patrón de corte transversal pueden establecerse algunas diferencias entre los grupos estudiados. En la dentina oclusal se encuentra que el diámetro es significativamente mayor en los dientes con OI ($1,58\mu\text{m}$) que en los dientes sanos ($0,59\mu\text{m}$) (p U Mann-Whitney $0,018$). De los anteriores resultados se deduce que los dientes procedentes de pacientes con OI tienen un diámetro superior a los dientes controles en la dentina más externa (Tabla 35).

Se encuentran diferencias significativas en el patrón de corte tubular transversal en el diámetro tubular de la dentina oclusal (p Kruskal-Wallis $0,037$). Se llevó a cabo un estudio con el test Post-Hoc en los puntos que resultaron estadísticamente significativos en el test no paramétrico, encontrándose diferencias significativas en el diámetro tubular en la dentina oclusal entre los controles sanos ($0,59\mu\text{m}$) y los dientes con OI tipo I ($2,07\mu\text{m}$) (p Bonferroni $0,022$). Estos resultados indican que los pacientes con OI tipo I presentan túbulos de mayor diámetro que los dientes sanos en la dentina oclusal.

Con respecto al patrón de corte transversal, se encontraron diferencias significativas en el diámetro tubular de la dentina profunda (p U Mann-Whitney $0,041$) en los dientes con un patrón de corte tubular transversal. Los resultados del test Post-Hoc indicaron una diferencia significativa en el diámetro tubular de la dentina profunda entre los dientes con OI tipo III ($2,04\mu\text{m}$) y I ($3,49\mu\text{m}$) (p Bonferroni $0,049$). Estos datos revelan que los dientes de pacientes con OI tipo I presentan un mayor diámetro tubular en la dentina profunda que los procedentes de pacientes con OI tipo III.

Patrón transversal			
	Muestra control – Muestra de estudio	Muestra control – Tipos de OI	Tipos de OI
	Sig. ^a	Sig. ^b	Sig. ^a
Diámetro tubular			
Dentina oclusal	0,018*	0,037*	0,269
Dentina media	0,227	0,156	0,241
Dentina profunda	0,983	0,062	0,041*
Dentina pulpar	0,263	0,333	0,392
Dentina total	0,913	0,341	0,345

Tabla 35. Significación del Test no paramétrico de U de Mann-Whitney y Test Kruskal-Wallis para muestras independientes para la variable diámetro tubular y patrón transversal.

^a Significación exacta y asintótica del Test de U de Mann-Whitney

^b Significación asintótica del Test de Kruskal-Wallis

*p <0,05. Significación estadística.

Con respecto al diámetro tubular observado en el patrón de corte transversal, los hallazgos indican que los dos grupos de estudio no tienen un comportamiento similar ni en la comparación entre grupos control y de estudio (G-G p 0,002). En el estudio del comportamiento del diámetro tubular dependiendo del tipo de OI se encontró que la variable diámetro tubular no se comportaba de forma similar en los grupos de estudio (G-G p 0,001), y por lo tanto han de ser evaluados de forma separada.

El grupo control presenta diferencias en el diámetro tubular en los puntos de estudio de la dentina (G-G p <0,001) entre la dentina oclusal y las demás regiones estudiadas, y entre la dentina media y pulpar. El análisis del grupo con OI también reveló diferencias significativas (G-G p 0,005) entre la dentina oclusal y la media y profunda. En ambos casos el diámetro en la dentina oclusal es inferior al diámetro tubular en otros puntos (Gráfico 20a). Con respecto al análisis de los tipos de OI, el grupo de OI tipo I y IV presentan diferencias significativas (G-G p 0,005) entre la dentina oclusal y profunda (G-G p 0,005 y G-G p 0,012 respectivamente), el tipo IV (G-G p 0,012) y el grupo de OI tipo III no presenta diferencias entre los puntos de estudio (Gráfico 20b).

Estos resultados indican que en el grupo control el diámetro tubular presenta un aumento desde la dentina pulpar a la media, para luego disminuir, no existiendo diferencias significativas en el grupo con OI con respecto al grupo control salvo en la dentina más externa, en donde el grupo con OI presenta un mayor diámetro tubular. Además, en el único tipo de OI en el que se observó esta diferencia relevante fue en los dientes procedentes de OI tipo I.

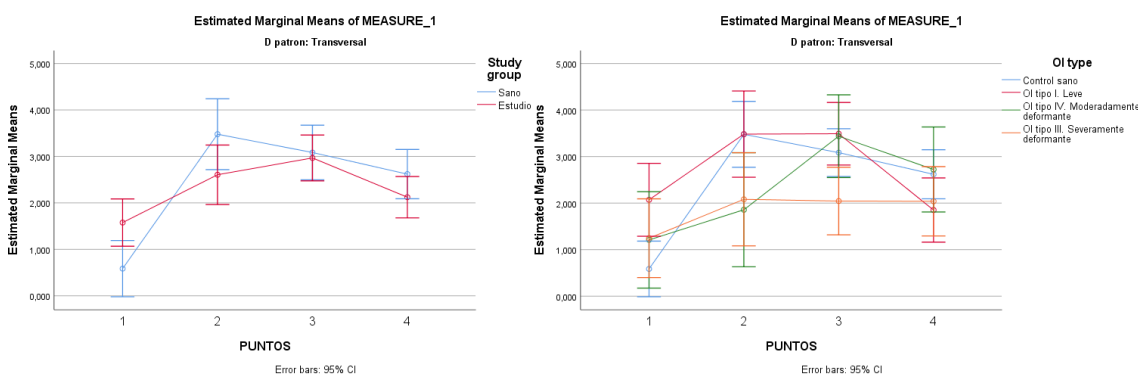


Gráfico 20. Curva de comportamiento del diámetro tubular en los 4 puntos de la dentina estudiados en el patrón de corte tubular transversal con respecto al grupo control (a) y con respecto a los tipos de OI y el grupo control (b). Existen diferencias significativas en el comportamiento con respecto al grupo control (p <0,05).

Estudio de la presencia de calcio en la dentina

El análisis mediante estadística inferencial de las diferencias de la cantidad de calcio en la dentina entre el grupo control y el grupo de estudio indicó que no existían diferencias significativas (p U Mann-Whitney >0,05). Las diferencias encontradas en la cantidad de calcio entre la muestra control y los tipos de OI tampoco resultaron ser estadísticamente significativas

(p Kruskal-Wallis >0,05). Debido a estos resultados, no podemos establecer que las diferencias existentes en la cantidad de calcio existan realmente y no sean debidas al azar, y, por lo tanto, consideraremos que no hay diferencias (Tabla 36).

Se llevó a cabo el estudio de la cantidad de calcio en los tipos de OI excluyendo el grupo control de la comparación, obteniendo que en todos los puntos de estudio de la dentina no existía una diferencia estadísticamente significativa entre los tipos de OI (p Kruskal-Wallis >0,05), por lo que afirmamos que no existen diferencias entre la cantidad de calcio dentinario y la severidad de la OI.

	Muestra control – Muestra de estudio (OI)	Muestra control – Tipos de OI	Tipos de OI (Excluyendo grupo control)
	Sig. ^a	Sig. ^b	Sig. ^b
Calcio (cps)			
Dentina oclusal	0,302	0,357	0,246
Dentina media	0,254	0,379	0,316
Dentina profunda	0,335	0,629	0,629
Dentina pulpar	0,761	0,485	0,196
Media de la dentina	0,478	0,856	0,851

Tabla 36. Significación del Test no paramétrico de U de Mann-Whitney y Test Kruskal-Wallis para muestras independientes para la variable presencia de calcio dentinario.

^a Significación exacta y asintótica del Test U de Mann-Whitney

^b Significación asintótica del Test de Kruskal-Wallis.

*p <0,05. Significación estadística.

La distribución de la cantidad de calcio en los 4 puntos de la dentina tuvo un comportamiento similar en los dos grupos de estudio (p G-G 0,257). Las diferencias en la cantidad de calcio en los 4 puntos estudiados de la dentina fueron estadísticamente significativas al 95% (p G-G <0,001), encontrándose diferencias entre la dentina oclusal y profunda, y entre la dentina pulpar y la dentina media y profunda. Sin embargo, no se encontraron diferencias entre el grupo estudio y control en la distribución del calcio en los 4 puntos de la dentina estudiados (Test de efectos intersujetos p 0,335) (Gráfico 21a).

Con respecto a los tipos de OI, el comportamiento en los diferentes puntos de la dentina estudiados fue similar (G-G p 0,352). Se encontraron diferencias significativas (G-G p 0,001) en la cantidad del calcio entre la dentina profunda con la dentina oclusal y pulpar. Pero no se obtuvieron resultados significativos en cuanto a la diferencia de cantidad de calcio en los puntos observados y el tipo de OI (Test de efectos intersujetos p 0,781) (Gráfico 21b).

Estos resultados indican que la cantidad de calcio aumenta desde la dentina más cercana a la pulpa a la dentina profunda para luego volver a disminuir paulatinamente al alejarse del tejido pulpar, independientemente del grupo de estudio y sin presentar diferencias entre grupos.

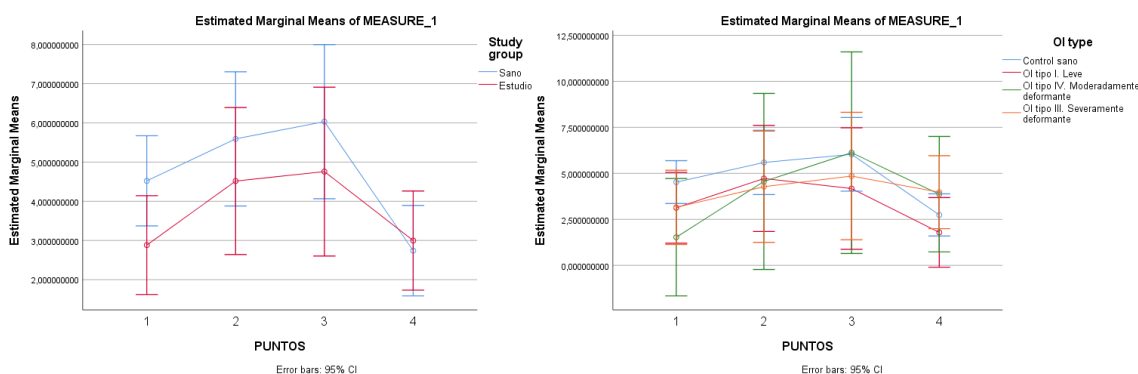


Gráfico 21. Curva de comportamiento del diámetro tubular en los 4 puntos de la dentina estudiados con respecto al grupo control (a) y con respecto a los tipos de OI y el grupo control (b). No existen diferencias significativas en el comportamiento con respecto al grupo control ($p > 0,05$).

Estudio de la presencia de fósforo en la dentina

Las diferencias existentes en la cantidad de fósforo entre el grupo control y el grupo de estudio resultaron estadísticamente significativas (p U Mann-Whitney $< 0,05$) en todas las localizaciones de la dentina estudiadas excepto en la dentina pulpar. La cantidad de calcio detectado en dientes con OI en la dentina oclusal (2,88 cps), media (4,52 cps), profunda (4,79 cps) y dentina total (3,79 cps) es significativamente menor a la detectada en las mismas localizaciones de dientes sanos (4,52 cps, 5,59 cps, 6,03 cps y 4,72 cps respectivamente) (Tabla 37).

Al analizar las diferencias entre los tipos de OI y el grupo control encontramos que existen diferencias significativas en la dentina oclusal (p Kruskal-Wallis 0,018) y media (p Kruskal-Wallis 0,045). Mediante el Test post-hoc de Bonferroni establecemos que existen diferencias estadísticamente significativas entre la cantidad de fósforo en la dentina oclusal entre los dientes con OI tipo IV (1,72 cps) y los dientes sanos (6,01 cps), interpretándose como que en los dientes con OI tipo IV existe un déficit de fósforo en la dentina más externa u oclusal, en comparación con el grupo de dientes sanos (p Bonferroni 0,04). Sin embargo, el test de Bonferroni niega que las diferencias encontradas en la dentina media sean significativas (p Bonferroni $> 0,05$).

Se analizó la cantidad de fósforo en los tipos de OI, excluyendo el grupo control, encontrándose que las diferencias no eran significativas estadísticamente en ninguno de los puntos estudiados (p Kruskal-Wallis $> 0,05$), por lo que no podemos establecer diferencias certeras entre los tres tipos de OI.

	Muestra control – Muestra de estudio (OI)	Muestra control – Tipos de OI	Tipos de OI
	Sig. ^a	Sig. ^b	Sig. ^b
Fósforo (cps)			
Dentina oclusal	0,006*	0,018*	0,158
Dentina media	0,012*	0,045*	0,224
Dentina profunda	0,029*	0,112	0,463
Dentina pulpar	0,079	0,342	0,929
Media de la dentina	0,016*	0,084	0,483

Tabla 37. Significación del Test no paramétrico de U de Mann-Whitney y Test Kruskal-Wallis para muestras independientes para la variable presencia de fósforo dentinario.

^a Significación exacta y asintótica del Test U de Mann-Whitney

^b Significación asintótica del Test de Kruskal-Wallis.

*p < 0,05. Significación estadística.

El comportamiento del fósforo en los 4 puntos de la dentina estudiados fue similar en el grupo estudio y control (G-G p 0,111). Se encontraron diferencias estadísticamente relevantes (G-G p < 0,001) en la cantidad de fósforo entre la dentina pulpar y la dentina media y profunda. Además, se encontró una diferencia estadísticamente significativa (Test de efectos intersujetos p 0,025) en la cantidad de fósforo entre el grupo control y estudio.

Con respecto al comportamiento del fósforo en el grupo control y los distintos tipos de OI, la cantidad de fósforo siguió un comportamiento similar en los puntos de la dentina estudiados (G-G p 0,36). Se observaron diferencias significativas (G-G p 0,005) en la cantidad de fósforo entre la dentina profunda y pulpar. Sin embargo, no se observaron diferencias relevantes entre el tipo de OI con respecto al grupo control en la cantidad de fósforo (Test de efectos intersujetos p 0,172).

De estos datos se deduce que la cantidad de fósforo aumenta desde la dentina más cercana a la pulpa a la dentina profunda, para luego descender de forma progresiva hacia la dentina más externa, existiendo una cantidad de fósforo menor en los dientes procedentes de sujetos con OI que en los extraídos de pacientes sanos. Sin embargo, no se encuentran diferencias entre los tipos de OI y el grupo control.

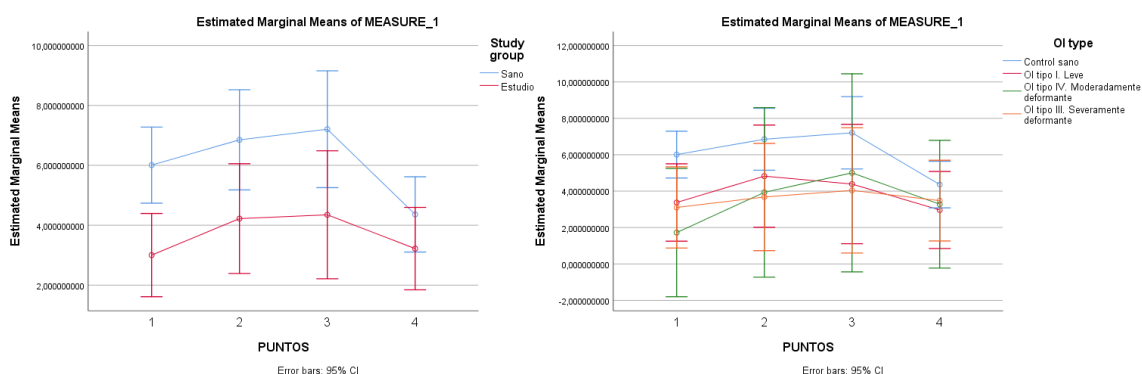


Gráfico 22. Curva de comportamiento del diámetro tubular en los 4 puntos de la dentina estudiados con respecto al grupo control (a) y con respecto a los tipos de OI y el grupo control (b). No existen diferencias significativas en el comportamiento con respecto al grupo control (p > 0,05).

Estudio de la relación entre los hallazgos clínicos, radiográficos y ultraestructurales en una cohorte de sujetos con Osteogénesis Imperfecta.

Estudio de la fiabilidad de las medidas de las variables.

De igual forma que en la primera fase del tratamiento, se llevó a cabo la medida de la fiabilidad en las variables medidas, que en esta fase del estudio fueron solamente variables cualitativas, y por lo tanto fueron analizadas con el Índice de Kappa, interpretado con las mismas consideraciones que en la primera fase del estudio e indicadas en la Tabla 16. Debido a la calibración previa de la investigadora principal, y a que las variables fueron evaluadas siempre por la misma observadora, solamente se llevó a cabo el estudio de la fiabilidad intraobservador.

Las variables cualitativas medidas fueron la presencia de alteraciones clínicas, el tipo de discoloración dental y la presencia de alteraciones radiográficas. Debido a que la medición de las variables estudiadas se llevó a cabo mediante fotografías y radiografías, deben considerarse todos aquellos factores que pudieran distorsionar la percepción de la imagen como son la iluminación y la nitidez. Las radiografías dentales fueron obtenidas tanto de los archivos del Título Propio de Odontología Integrada en el Niño con Necesidades Especiales, procedentes de estudios radiológicos realizados en la Facultad de Odontología, como de fuentes externas (aquellas radiografías y fotografías que aportaron los pacientes), por lo que se consideró de gran importancia la evaluación del acuerdo para determinar que no existía diferencias o sesgos dependiendo de la procedencia de los registros. El estudio fotográfico se llevó a cabo con fotografías obtenidas con la cámara fotográfica del Título Propio, utilizando los mismos valores paramétricos, minimizando la capacidad de variación de la calidad de las imágenes. La evaluación de las variables se efectuó siempre en el mismo ordenador y con el mismo brillo de la pantalla, para minimizar en la medida de lo posible las posibles diferencias de calidad de imagen dependiendo del origen de las mismas.

Se llevó a cabo una segunda medición de todas las muestras en las mismas condiciones que la primera medición y por el mismo operador, con el objetivo de efectuar el Índice de Kappa y evaluar el acuerdo intraoperador. En todas las variables se obtuvo un grado de acuerdo excelente (Tabla 38), por lo que se determinó que las variables elegidas son reproducibles y fiables, y que, el origen de los registros utilizados en el presente estudio no influyó en la medición de las alteraciones clínicas o radiográficas.

Variable evaluada	Valor de Kappa	Interpretación del grado de acuerdo
Presencia de alteraciones clínicas (n=17)	0,881	Excelente
Tipo de discoloración (n=17)	0,881	Excelente
Presencia de alteraciones radiográficas (n=13)	0,806	Excelente

Tabla 38. Interpretación del grado de concordancia de las variables de estudio mediante el Índice de Kappa.

Descripción de la muestra de estudio

Descripción de las variables demográficas

La muestra estuvo compuesta por 17 sujetos con OI que habían participado en la primera fase del estudio. El 52,9% de la muestra se correspondía con mujeres, y el 47,1% restante estaba formado por hombres. Además, prácticamente todos los sujetos habían sido tratados farmacológicamente debido a la OI (94,1%). Es importante resaltar que en la variable mutación genética hubo muchos datos perdidos (5 sujetos, 29,41% de la muestra) debido a que muchos de los sujetos de estudio carecían de estudio genético; de aquellos sujetos de los que se disponía estudio genético, la mayoría de las mutaciones se encontraban en los genes COL1A1 y COL1A2 (58,8%) (Tabla 39 y Gráfico 23).

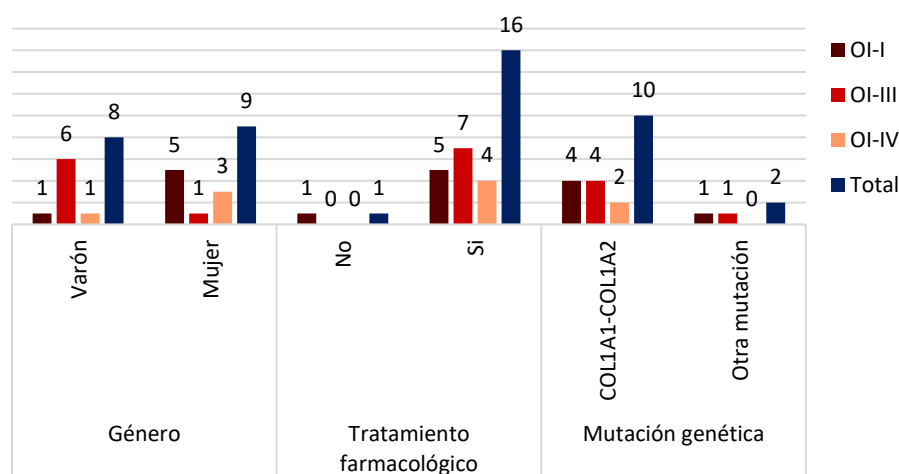


Gráfico 23. Frecuencias de las variables demográficas género, tratamiento farmacológico y mutación genética en la segunda fase de estudio.

Tipo de OI	Género		Tratamiento farmacológico		Mutación genética	
	Varón	Mujer	No	Si	COL1A1-COL1A2	Otra mutación
OI-I	1 16,7%	5 83,3%	1 16,7%	5 83,3%	4 66,7%	1 16,7%
OI-III	6 85,7%	1 14,3%	0 0%	7 100%	4 57,1%	1 14,3%
OI-IV	1 25%	3 75%	0 0%	4 100%	2 50%	0 0%
Total	8 47,1%	9 52,9%	1 5,9%	16 94,1%	10 58,8%	2 11,8%

Tabla 39. Frecuencias y porcentajes de las variables demográficas género, tratamiento farmacológico y mutación genética en la segunda fase de estudio.

Se evaluó la homogeneidad de variables cualitativas en los grupos de estudio, para determinar si la distribución de las variables era similar. El género de los sujetos no se distribuía de forma homogénea entre los tipos de OI (p Fisher 0,028), sin embargo, al igual que en la fase de estudio previa, no se considera que el género del sujeto influya en la morfología ultraestructural dentaria, por lo que no se ha considerado como una variable de confusión. Por otro lado, tanto el tratamiento farmacológico (p Fisher 0,588) como la mutación genética (p Fisher 1) seguían una distribución homogénea en los grupos estudiados, por lo que no se considera que puedan influir sobre los resultados del estudio.

Descripción de las alteraciones clínicas, radiográficas y ultraestructurales dentarias

El 41,2% de la muestra estudiada presentaba alteraciones clínicas dentarias como alteración del color dental, atrición severa o aspecto clínico de coronas bulbosas (Figura 17). Estas alteraciones solamente se presentaron en sujetos con OI tipo III (57,1%) y tipo IV (75%), estando ausentes en los sujetos con OI tipo I, el fenotipo más leve de la enfermedad sistémica.

Con respecto a la discoloración dentaria, solamente se encontró el tipo de discoloración catalogado como amarillo-marrón, estando ausente la alteración de color gris-azulada (Tabla 41 y Gráfico 24).

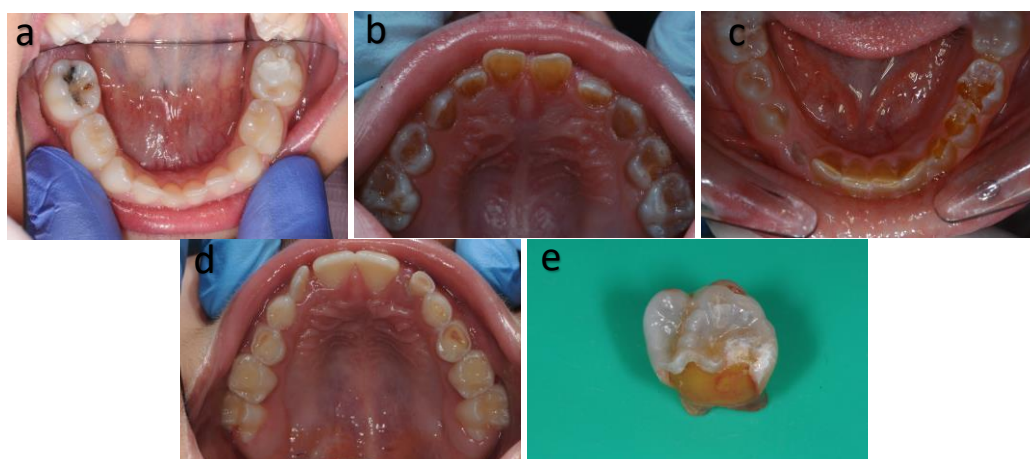


Figura 17. Imágenes clínicas oclusales de los maxilares (a-d) e imagen macroscópica de un segundo molar temporal superior extraído (e). Los pacientes con OI pueden presentar un aspecto clínico de la dentición normal (a), así como discoloración dentaria (b, c), atrición severa (c, d) y pérdida de esmalte (c). En la imagen dentaria macroscópica (e) puede observarse que se ha producido una pérdida de esmalte en la cara vestibular.

Se encontraron alteraciones radiográficas en el 69,2% de la muestra estudiada, relacionadas con la alteración en la formación radicular (constricción cervical acentuada, raíces cortas y/o estrechas), obliteración de la cámara y conductos pulpares, agenesias y angulaciones radiculares atípicas, entre otras (Figura 18). Estas alteraciones se encontraron en todos los sujetos con OI tipo IV, siendo menos frecuentes en la OI tipo III (66,7%) y tipo I (60%) (Tabla 41 y Gráfico 25).

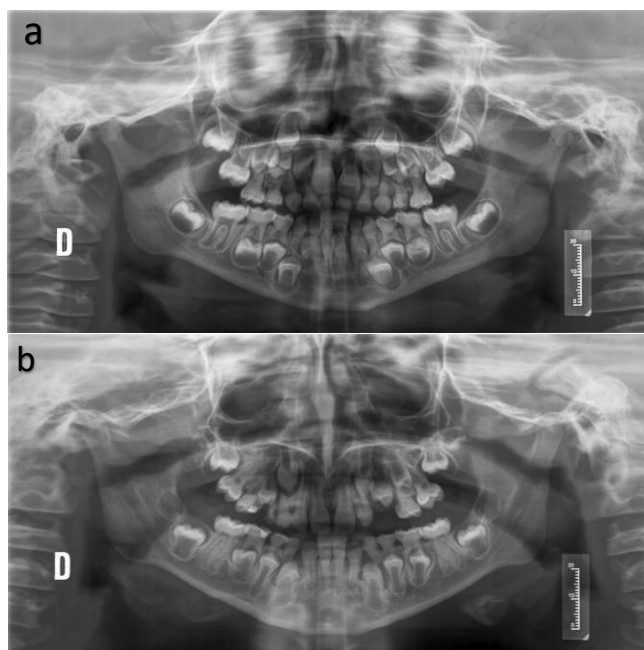


Figura 18. Ortopantomografías de pacientes con OI (a, b) en la que se pueden observar la acentuación de la constricción cervical, la obliteración de cámaras pulpares y conductos radiculares y la estrechez de las paredes radiculares.

Como ya se expresó en la primera fase del estudio, se encontraron alteraciones ultraestructurales dentarias en todos los dientes de sujetos con OI. Con respecto a la severidad de la afectación dental, fue en la mayor parte de los casos moderada (47,1%) o severa (41,2%), siendo leve en solamente el 11,8% de la muestra. La alteración severa fue lo más frecuente en la OI tipo III y IV (57,1% y 50% respectivamente), y lo más infrecuente en la OI tipo I (16,7%); mientras que la alteración moderada fue lo más frecuente en la OI tipo I (66,7%) (Tabla 40 y Gráfico 26).

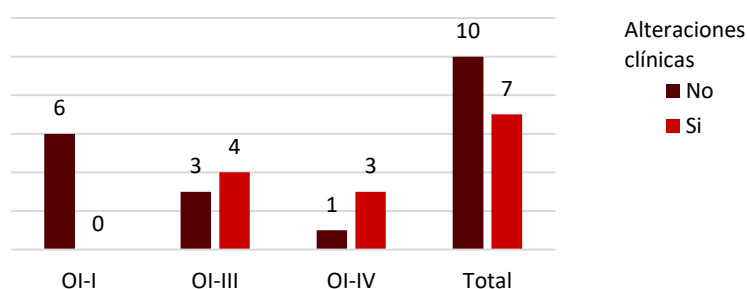


Gráfico 24. Frecuencias de las alteraciones clínicas en pacientes con OI.

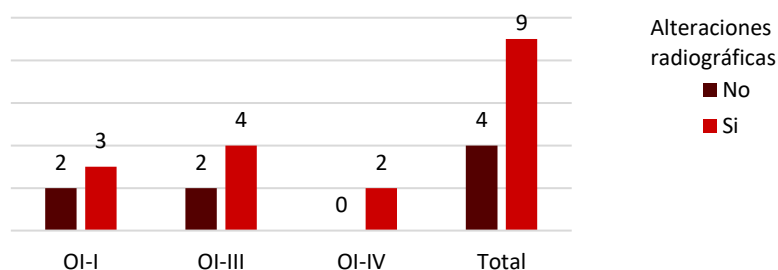


Gráfico 25. Frecuencias de las alteraciones radiográficas en pacientes con OI.

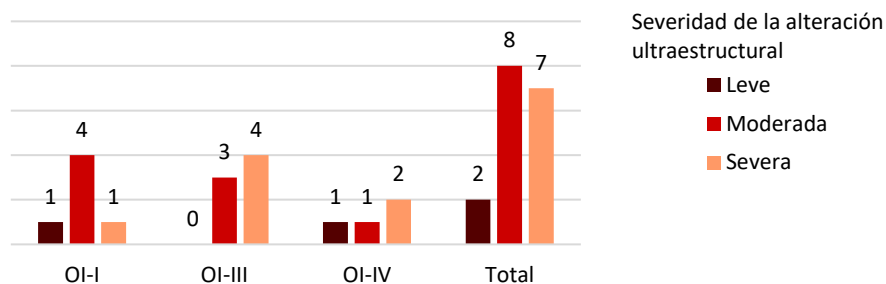


Gráfico 26. Frecuencias de las ultraestructurales dentarias en pacientes con OI.

	Alteraciones clínicas		Discoloración dentaria		Alteraciones radiográficas		Alteraciones ultraestructurales		Severidad de la alteración ultraestructural		
	No	Si	Ausente	Amarillo-marrón	No	Si	No	Si	Leve	Moderada	Severa
OI-I	6 100%	0 0%	6 100%	0 0%	2 40%	3 60%	-	6 100%	1 16,7%	4 66,7%	1 16,7%
OI-III	3 42,9%	4 57,1%	3 42,9%	4 57,1%	2 33,3%	4 66,7%	-	4 100%	0 0%	3 42,9%	4 57,1%
OI-IV	1 25%	3 75%	1 25%	3 75%	0 0%	2 100%	-	7 100%	1 25%	1 25%	2 50%
Total	10 58,8%	7 41,2%	10 58,8%	7 41,2%	4 30,8%	9 69,2%	-	17 100%	2 11,8%	8 47,1%	7 41,2%

Tabla 40. Frecuencias y porcentajes de las alteraciones clínicas, radiográficas y ultraestructurales dentarias.

Descripción de la relación entre las alteraciones clínicas, radiográficas y ultraestructurales

Se llevó a cabo el estudio de la relación entre la presencia de alteraciones a nivel clínico y radiográfico. Todos los sujetos con alteraciones dentarias clínicas presentaban anomalías radiográficas, y además un 55,6% de los sujetos que no presentaban cambios clínicos patológicos también presentaban alteraciones radiográficas (Tabla 41 y Gráfico 27).

		Alteraciones clínicas	
		No	Si
Alteraciones radiográficas	No	4	0
	Si	5	4

Tabla 41. Frecuencia de presentación de alteraciones clínicas y radiográficas (n=13)

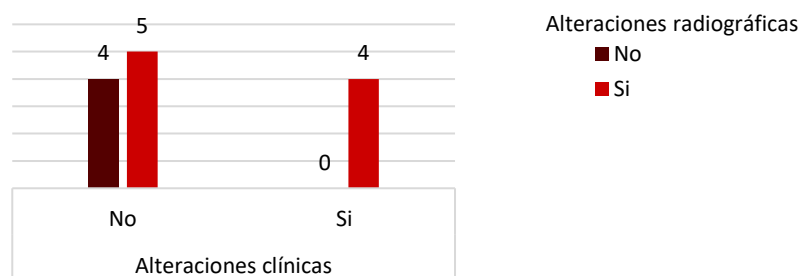


Gráfico 27. Frecuencia de presentación de alteraciones clínicas y radiográficas (n=13).

Se estudió la relación entre la presencia de alteraciones clínicas, radiográficas y la severidad de la alteración ultraestructural dental. El 71,4% de los sujetos con alteraciones dentales clínicas presentaban una alteración dental ultraestructural severa, mientras que los sujetos sin alteraciones clínicas tendían a tener una alteración ultraestructural moderada (60%). Por otro lado, de los sujetos que presentaban alteraciones radiográficas, solamente un 33,3% presentaron alteraciones severas, siendo lo más frecuente las alteraciones moderadas de la dentina (55,6%); en los sujetos que no presentaban alteraciones radiográficas lo más frecuente fue también encontrar una alteración moderada de la dentina (50%) (Tabla 42 y Gráfico 28).

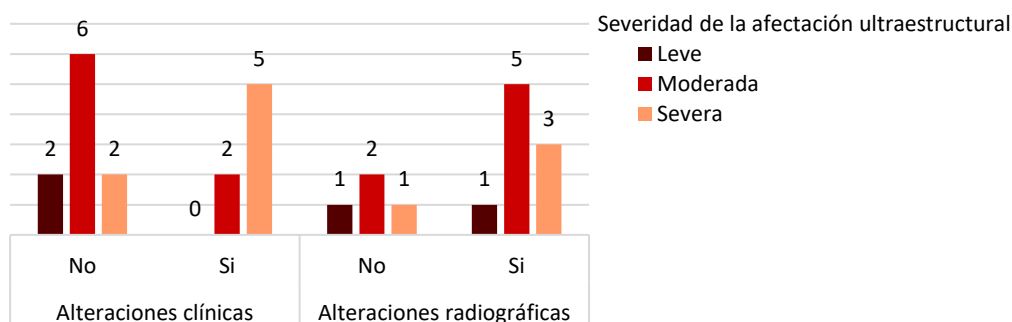


Gráfico 28. Frecuencia de la relación de las alteraciones clínicas (n=17) y radiográficas (n=13) con la severidad de la alteración ultraestructural dental.

		Alteraciones clínicas		Alteraciones radiográficas	
		No	Si	No	Si
Severidad de la alteración ultraestructural	Leve	2	0	1	1
	Moderada	6	2	2	5
	Severa	2	5	1	3

Tabla 42. Frecuencia de la relación de las alteraciones clínicas (n=17) y radiográficas (n=13) con la severidad de la alteración ultraestructural dental.

Con respecto a la relación entre los hallazgos patológicos clínicos y radiográficos, destaca que en ningún sujeto se encontraron alteraciones clínicas en ausencia de alteraciones radiográficas, por lo que no se consideró como una variable posible. La afectación dental fue clasificada en 3 categorías dependiendo de la presencia de alteraciones clínicas y/o radiográficas. Lo más frecuente fue encontrar de forma exclusiva anomalías radiográficas (38,5%), seguido de la presencia conjunta de alteraciones clínicas y radiográficas (30,8%) y la ausencia de hallazgos patológicos (30,8%). (Tabla 43 y Gráfico 29).

En los pacientes con OI tipo III lo más frecuente fue encontrar de forma simultánea alteraciones clínicas y radiográficas (50%), mientras que en la OI tipo I fue la presencia de alteraciones radiográficas exclusivas (60%), oscilando en la OI tipo IV entre alteraciones exclusivamente radiográficas y clínico-radiográficas (50% cada una respectivamente). Resalta que en los pacientes con OI tipo I no se presentó de forma simultánea la manifestación clínica y radiográfica en ningún sujeto.

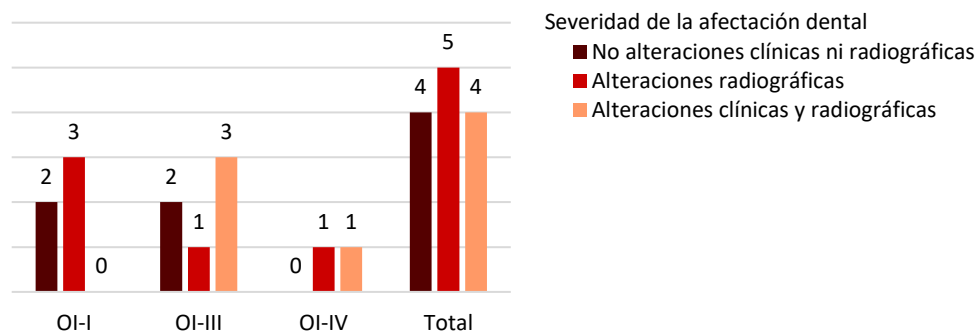


Gráfico 29. Frecuencias de la severidad de la afectación dental según criterios clínicos y radiográficos en los diferentes tipos de OI y en la muestra total (n=13).

	Severidad de la afectación dental		
	No alteraciones clínicas ni radiográficas	Alteraciones radiográficas	Alteraciones clínicas y radiográficas
OI-I	2 40%	3 60%	0 0%
OI-III	2 33,3%	1 16,7%	3 50%
OI-IV	0 0%	1 50%	1 50%
Total	4 30,8%	5 38,5%	4 30,8%

Tabla 43. Frecuencias y porcentajes de la severidad de la afectación dental clínica-radiográfica dental según criterios clínicos y radiográficos en los diferentes tipos de OI y en la muestra total (n=13).

Se estudió la relación entre la severidad de la afectación dental a nivel clínico-radiográfico y la severidad de la alteración morfológica estructural dentaria. El 75% de los sujetos que tenían de forma simultánea alteraciones clínicas y radiográficas presentaban alteración ultraestructural dentaria severa, estando ausente en aquellos que solamente presentaban alteración radiográfica y siendo un 25% de los sujetos sin alteración clínica ni radiográfica. Por otro lado, el 80% de los sujetos que solamente presentaban signos de DGI-I radiográficos tenían una alteración dental moderada (Tabla 44 y Gráfico 30).

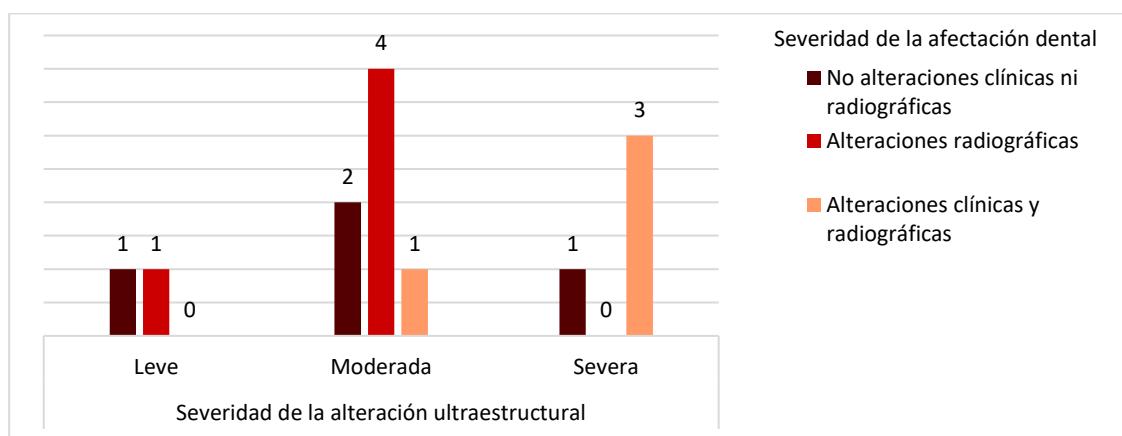


Gráfico 30. Frecuencias de la relación entre la severidad de la afectación dental y la severidad de la alteración ultraestructural dentinaria.

		Severidad de la afectación dental		
		No alteraciones clínicas ni radiográficas	Alteraciones radiográficas	Alteraciones clínicas y radiográficas
Severidad de la alteración ultraestructural	Leve	1	1	0
	Moderada	2	4	1
	Severa	1	0	3

Tabla 44. Frecuencias y porcentajes de la relación entre la severidad de la afectación dental y la alteración ultraestructural.

Análisis comparativo de las variables en la muestra de estudio.

Se efectuó el test exacto de Fisher para analizar la relación entre las variables cualitativas, con el objetivo de poder establecer si las diferencias obtenidas entre los grupos de estudio y entre las variables son significativas.

Estudio de las alteraciones clínicas, radiográficas y ultraestructurales

Las alteraciones clínicas y radiográficas no presentaron diferencias significativas en cuanto a la frecuencia de afectación dependiendo de los tipos de OI (Fisher $p > 0,05$). La severidad de la alteración dental ultraestructural y la severidad de la alteración dental (clínico-radiográfica) tampoco presentó diferencias significativas con respecto al tipo de OI (Fisher $p > 0,05$). Por lo tanto, podemos establecer que no existen diferencias significativas en cuanto a la afectación dental con respecto al fenotipo de la enfermedad sistémica (OI), así, tampoco existe una relación entre la severidad de la alteración ultraestructural dental y la alteración dental clínico-radiográfica con respecto a los tipos de OI (Tabla 45).

La ausencia de discoloración dental en los sujetos con OI tipo I (100%) fue significativa al 95% (Fisher $p 0,044$). Debido a este resultado, podemos determinar que los sujetos con OI tipo I no presentan alteración del color dental.

	Tipos de OI
	Sig. ^a
Alteraciones clínicas	0,044*
Discoloración	0,044*
Alteraciones radiográficas	1
Severidad de la alteración ultraestructural	0,428
Severidad de la alteración dental	0,364

Tabla 45. Significación del Test exacto de Fisher para las alteraciones clínicas, radiográficas y ultraestructurales dentarias asociadas a la OI.

^a Significación exacta y bilateral.

*p <0,005. Significación estadística.

Estudio de la relación entre las alteraciones clínicas, radiográficas y ultraestructurales

No existen diferencias significativas (Fisher p >0,05) en la relación entre la presencia de alteraciones clínicas y radiográfica, alteraciones radiográficas y severidad de la alteración ultraestructural, y en la relación entre la severidad de la alteración clínico-radiográfica y ultraestructural. Por lo tanto, no podemos determinar que la alteración clínica y radiográfica esté relacionada. Tampoco podemos afirmar que la severidad de la alteración ultraestructural dental influya en la presencia de alteraciones radiográficas o en la severidad de la alteración dental clínico-radiográfica (Tabla 46).

Existe diferencia significativa al 95% en la relación entre las alteraciones clínicas y la severidad de la alteración ultraestructural (Fisher p 0,037), considerándose relevante que el 83,3% de las alteraciones clínicas presenten alteraciones morfológicas dentarias severas.

	Sig. ^a
Alteraciones clínicas*radiográficas	0,228
Alteraciones clínicas*severidad alteración ultraestructural	0,108
Alteraciones radiográficas*severidad alteración ultraestructural	1,000
Severidad alteración ultraestructural*severidad alteración dental	0,172

Tabla 46. Significación del Test exacto de Fisher para la relación entre las alteraciones clínicas, radiográficas y ultraestructurales dentarias asociadas a la OI.

^a Significación exacta y bilateral.

*p <0,005. Significación estadística.

DISCUSIÓN

Fiabilidad y reproducibilidad del estudio

Los estudios previos acerca de la ultraestructura de la dentición de sujetos con OI son muy heterogéneos, tanto en tamaño muestral como en metodología utilizada. Además, todos los estudios con excepción del llevado a cabo por Malmgren y colaboradores (70) fueron observacionales (20, 24, 69, 81, 82, 102, 105-108). Debido a que los estudios previos son descriptivos es difícil establecer una comparativa entre ellos.

La elaboración de los criterios de inclusión y exclusión del estudio se realizó con el objetivo de facilitar el proceso de muestreo. Se seleccionó la dentición temporal como criterio de inclusión en el estudio debido a la mayor facilidad de obtención que la dentición permanente. La clasificación de la OI fue la original de Sillence en 4 tipos dependiendo de las características clínico-radiográficas, ya que es mundialmente aceptada y tiene una connotación de severidad que facilita la comunicación entre profesionales, además de permitir la comparación con otros autores.

En los estudios previos la muestra fue de un máximo de 33 dientes (Tabla 47), mientras que en nuestro estudio se contó 25 dientes de sujetos con OI y 30 dientes control, que fueron analizados de forma sistemática, aportando datos relevantes acerca de la afectación dental en sujetos con OI. En la segunda fase de estudio se contó con 17 sujetos con OI, de los cuales se tenían recogidos los hallazgos a nivel clínico, radiográfico y ultraestructural, por lo que nos permitió el análisis de la relación entre los tres niveles de estudio.

Estudio	Instrumento de estudio	Clasificación de Sillence	Tamaño muestral	Muestra control
Waltimo, J. 1994	MET* MO**	Si	7 incisivos temporales	No
Waltimo, J. 1994	MET	Si	2 dientes temporales	1 diente temporal 1 diente permanente
Waltimo, J. 1996	MO MET	Si	8 dientes temporales 1 molar permanente	No
Lygidakis, N A. 1996	MEB***	Si	22 dientes temporales 4 dientes permanentes	26 dientes
Lindau, B. 1999	MEB MO	Si	15 dientes temporales 11 dientes permanentes	10 dientes temporales 10 dientes permanentes
Lindau, B. 1999	MO MEB	Si	12 dientes temporales 11 dientes permanentes	10 dientes temporales 9 dientes permanentes
Hall, R K. 2002	MEB MET	Si	8 dientes temporales	No
Malmgren, B. 2003	MO	Si	33 dientes temporales 9 dientes permanentes	10 dientes temporales 10 dientes permanentes
De Coster, P J. 2007	MO MET	Si	1 diente temporal 3 dientes permanentes	3 dientes temporales 4 dientes permanentes
Majorana, A. 2010	MO MEB	Si	1 diente temporal	No
Kantaputra P.N. 2018	MEB	Si	2 incisivos temporales	1 incisivo

Tabla 47. Resumen de tamaños muestrales de estudios previos en el área de estudio (20, 24, 69, 70, 81, 82, 102, 105-108).

*MET: Microscopio electrónico de Transmisión

**MO: Microscopio óptico

***MEB: Microscopio electrónico de Barrido

Se realizó un proceso de selección entre métodos de microscopía para la elección del método final de observación y análisis de las muestras, determinando las ventajas y desventajas de la microscopía óptica, y de la microscopía electrónica, seleccionando finalmente el microscopio electrónico de barrido (MEB) como método de estudio. El MEB es una técnica de microscopía electrónica que aporta imágenes de la superficie de la muestra mediante las interacciones de los electrones y la materia, por lo que la imagen final está obtenida a partir de electrones y no de luz. Entre las múltiples ventajas del MEB se encuentran la gran profundidad de campo y resolución de la imagen, además de la facilidad para la preparación de las muestras. Además, el detector de energía dispersiva permite (EDS) analizar los rayos X generados por la muestra y estudiar la composición química de las partículas y la distribución de elementos en la superficie de la muestra estudiada. Sin embargo, como desventajas, es una técnica muy costosa y es precisa la presencia de personal cualificado, además de que no permite analizar el metabolismo de la muestra.

Las variables de estudio fueron seleccionadas de acuerdo a lo estudiado por otros autores previamente. La categorización de los hallazgos dentales permite tanto la utilización de las variables estudiadas para nuevos estudios, como su incorporación en otros trabajos de diseño similar, aumentando el conocimiento de la alteración dental en sujetos con OI. Los elevados CCI e Índice de Kappa obtenidos al evaluar la concordancia intraoperador indican un gran nivel de acuerdo, por lo que puede establecerse que las variables utilizadas para el presente estudio son fiables, y por lo tanto reproducibles.

Características ultraestructurales dentarias de la dentición temporal en la población sana

El esmalte de los dientes temporales se caracteriza por tener una capa aprismática en la región del esmalte más externa y en la zona más cercana a la UAD, en la cual el esmalte carece de una estructura geométrica. Sin embargo, la mayor parte del esmalte posee una estructura cristalina, formada por prismas de esmalte dispuestos de geométricamente. Los prismas de esmalte se orientan perpendiculares a la UAD y a la superficie dentaria, dirigiéndose desde la UAD hacia la superficie más externa del esmalte, de forma que los prismas del esmalte tienen una disposición paralela entre ellos (1, 2, 7-10). En nuestra muestra de estudio en el 80% de los dientes control se encontró una estructura similar a la descrita en la literatura, en la que se observa una capa de esmalte aprismático externa, seguida de un esmalte de estructura prismática. En solamente uno de nuestros casos estudiados (3,3%) se observó una alteración leve del esmalte, que podría ser descrita como un “desdibujamiento” parcial de los prismas de esmalte.

La UAD es la unión entre el esmalte y la dentina, y se describe como una estructura festoneada entre los dos tejidos mencionados anteriormente, en la cual se encuentran en íntimo contacto (1-3). En el presente estudio se analizó la relación entre el esmalte y la dentina en la UAD, de tal forma que se consideró patológica la separación entre ambos tejidos. La UAD se observó alterada en el 20% de los casos en la región oclusal y en un 13,3% en cervical. La mayoría de las alteraciones en oclusal fueron parciales o leves, observándose una separación en solamente dos muestras, una con separación limpia y otra con restos de esmalte adheridos a la dentina. En la región cervical la mitad de los dientes con la UAD alterada presentaban una alteración leve y la otra mitad alteración con separación limpia entre el esmalte y la dentina.

La unidad primaria básica de la dentina son los túbulos dentinarios, que se disponen desde el tejido pulpar hasta la UAD, teniendo un recorrido paralelo entre los túbulos dentinarios (1-3). En nuestra muestra de estudio se analizaron de forma cualitativa las alteraciones en el diámetro, disposición y dirección de los túbulos dentinarios, encontrándose que en un 10% de los dientes procedentes de sujetos sanos (3 dientes) se presentaba una dentina alterada, siendo estas alteraciones leves (6,7%) o moderadas (3,3%), en las cuales se observaba una alteración en la distribución o dirección de los túbulos dentinarios en la dentina media, profunda y pulpar.

Con respecto al diámetro y densidad tubular, se describe que los túbulos dentinarios presentan un diámetro mayor en la región más cercana a la pulpa, disminuyendo progresivamente hasta la región más cercana a la UAD. Además, la mayor densidad tubular también se encuentra en la región más interna de la dentina, produciéndose una disminución de la densidad tubular a medida que nos alejamos del tejido pulpar (1-3, 111). Sin embargo, a pesar de que existen pocos estudios acerca de la microestructura dentinaria en dentición temporal, los resultados son heterogéneos, ya que las regiones estudiadas y la muestra de estudio varían entre los estudios. Debido a la heterogeneidad en el diseño de los estudios y en la muestra seleccionada, solamente se discutirán resultados con estudios llevados a cabo con MEB y dientes temporales.

Koutsi y colaboradores (112) analizaron la densidad tubular en 4 áreas de diferente profundidad, confirmando que la densidad tubular aumentaba a medida que se profundizaba en la dentina (densidad tubular superficial $17,433 \pm 1,370$ túbulos/mm², externa $18,075 \pm 2,415$ túbulos/mm², intermedia $20,433 \pm 2,568$ túbulos/mm² y profunda $26,391 \pm 6,605$ túbulos/mm²),

aunque las diferencias solamente fueron significativas ($p < 0,05$) entre la densidad tubular intermedia y profunda. Sumikawa y colaboradores (111) analizaron el incremento de túbulos dentinarios por unidad de análisis en diferentes puntos de profundidad de la dentina, encontrando que se producía un aumento de 3.100-7.800 túbulos/mm²/mm en los incisivos laterales y de 4.400-11.800 túbulos/mm²/mm en los caninos, demostrando que se producía un aumento en la densidad tubular al profundizar en la dentina. Posteriormente, Schilke y su equipo de investigación (113) estudiaron la dentina en dos puntos, obteniendo que la densidad tubular es significativamente menor ($p < 0,01$) en la región externa analizada (18.243 ± 3.845 túbulos/mm²) que en la interna (24.162 ± 5.338 túbulos/mm²), con resultados similares a los descritos por Koutsi y colaboradores. Ruschel y colaboradores (114) analizaron la densidad tubular en el tercio medio de la dentina, obteniendo cifras a las reportadas por autores previos, describiendo una densidad tubular media de $17.997,594 \pm 4.744,044$ túbulos/mm² en primeros molares y de $25.211,317 \pm 8.111,314$ túbulos/mm² en segundos molares temporales. Lenzi y su grupo de investigación (11), no encontraron diferencias significativas en cuanto a la densidad tubular y la profundidad de análisis de la dentina, encontrando una media de 124.329 ± 43.594 túbulos/mm², cifras muy superiores a las descritas anteriormente por otros autores.

Con respecto a la densidad tubular, en nuestra muestra control, se obtuvieron cifras de densidad tubular media inferiores a las descritas por los autores previos (11, 112-114), con una densidad media de $4.813,52 \pm 1.665,51$ túbulos/mm² en los cortes longitudinales y de $10.498,53 \pm 4.554,90$ túbulos/mm² en los cortes transversales. Las variaciones con respecto a la densidad tubular encontradas con otros autores pueden deberse a la no estandarización de los lugares utilizados para la medición, la no coincidencia de la metodología de preparación de las muestras, o la extrapolación de los resultados medidos en diferentes aumentos con el MEB. Con respecto a la profundidad de análisis en la dentina, el recuento o densidad tubular indicó, tanto en el grupo de imágenes transversales como longitudinales, que se produce un aumento de la densidad tubular a medida que nos acercamos al tejido pulpar, coincidiendo con Koutsi y colaboradores (112), Sumikawa y colaboradores (111) y Shilke y colaboradores (113), encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) entre la dentina oclusal y todos los demás puntos de estudio, y entre la dentina profunda y pulpar; por lo tanto podemos establecer que se produce un aumento de la densidad tubular en la dentina desde la región de la dentina más externa a la más interna.

Koutsi y su equipo (112) analizaron el diámetro tubular en 4 áreas de diferente profundidad de la dentina, indicando que el diámetro tubular aumentaba a medida que se profundizaba en la dentina (diámetro superficial $0,96 \pm 0,03$ µm, externo $1,08 \pm 0,12$ µm, intermedio $1,10 \pm 0,09$ µm y profundo $1,29 \pm 0,10$ µm), aunque las diferencias solamente fueron significativas ($p < 0,05$) entre el diámetro tubular superficial y profundo. Sumikawa y colaboradores (111) analizaron el aumento del diámetro tubular en diferentes puntos de la dentina, estableciendo que se producía un aumento del diámetro tubular de $0,28$ µm/mm en los caninos y de $0,39$ µm/mm en los incisivos laterales, al acercarse al tejido pulpar. En el estudio de Shilke y colaboradores (113), realizado en dos puntos de la dentina de diferente profundidad, los hallazgos indicaron un diámetro tubular medio mayor que el descrito previamente por Koutsi y colaboradores, pero confirmando que el diámetro tubular era menor en la región de dentina externa ($2,55 \pm 0,16$ µm) que en la región interna ($2,82 \pm 0,28$ µm) analizada, con diferencias significativas ($p < 0,01$). Ruschel y colaboradores (114) describieron un diámetro tubular medio de $0,794 \pm 0,265$ µm en los primeros molares y de $1 \pm 0,225$ µm en segundos molares, analizados en el tercio medio de la dentina, con resultados similares a los descritos anteriormente por Koutsi y colaboradores, y por lo tanto inferiores a Shilke y su equipo de investigación. Lenzi y

colaboradores (11) describieron un diámetro tubular medio de $3,47 \pm 0,73 \mu\text{m}$, superior al descrito por otros autores, con diferencias significativas ($p < 0,05$) en cuanto a la profundidad de análisis de la dentina (diámetro superficial $2,40 \pm 0,07 \mu\text{m}$, medio $3,70 \pm 0,06 \mu\text{m}$, y profundo $4,28 \pm 0,04 \mu\text{m}$)

Con respecto al diámetro tubular, nuestros datos indicaron un diámetro medio de $2,82 \pm 0,64 \mu\text{m}$ y de $2,44 \pm 0,38 \mu\text{m}$ en los patrones de corte longitudinal y transversal, respectivamente. Las cifras obtenidas en el presente estudio son similares a las obtenidas en el estudio de Schilke y colaboradores (113), pero difieren con otros estudios que reportan diámetros tubulares ligeramente superiores (11) o inferiores (112, 114) a nuestros resultados. Estas diferencias encontradas con otros autores, aunque son leves, pueden ser debido a diferencias metodológicas como la localización de la dentina seleccionada para la medición o el método de preparación de las muestras. Las diferencias entre el diámetro de los túbulos dentinarios y la profundidad de análisis en la dentina fue estadísticamente significativa ($p < 0,001$) entre todos los puntos estudiados en el patrón de corte longitudinal y entre la dentina oclusal y todos los puntos de estudio, y la dentina profunda y pulpar en el patrón de corte transversal, indicando que el mayor diámetro pulpar se encuentra en la dentina media, disminuyendo paulatinamente hasta el esmalte, por un lado, y al acercarse al tejido pulpar, por otro lado, encontrándose la región oclusal con el menor diámetro medio tubular. Nuestros resultados contradicen a los estudios previos (11, 111-113), ya que se describe que el mayor diámetro tubular se encuentra en la región de dentina más cercana a la pulpa y disminuye al alejarse de ella paulatinamente; es importante considerar que los estudios realizados acerca de la profundidad de análisis y el diámetro tubular difieren en el número de regiones de análisis, y por lo tanto en el área estudiada, y que debido a ello los resultados de los estudios previos son difícilmente comparables tanto entre ellos como con el estudio actual.

Derise y colaboradores llevaron en 1974 un estudio (115) en el cual analizaron la composición de 175 dientes permanentes, obteniendo las concentraciones medias de algunos elementos seleccionados previamente mediante análisis por activación de neutrones (AAN) y absorción atómica por espectrofotometría (AAS), expresando los resultados en porcentaje de partes por millón (ppm) en peso. Sus resultados indicaron una media de 26,9% de calcio y una media de 13,2% de fósforo, encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) en los diferentes grupos de edad estudiados. En un estudio posterior, Saiki y colaboradores (116) determinaron mediante AAN que el contenido en calcio de la dentina de dientes sanos permanentes representa un 26,1%, coincidiendo con el estudio previo de Derise y colaboradores. Lakomaa y su grupo de trabajo (117) llevaron a cabo un estudio en dientes temporales, determinando mediante AAN que el calcio representa un 24,8% en dientes temporales, y el fósforo un 13,3%, valores ligeramente inferiores a los obtenidos en dentición permanente.

Se llevó a cabo un análisis mediante EDS de la cantidad de calcio y fósforo en los dientes control, medido en cps. Se encontró que había una media de $4,72 \pm 3,88$ cps de calcio y de $6,11 \pm 4,65$ cps de fósforo, superando la cantidad de fósforo a la del calcio contradiciendo los estudios previos (115-117). Se analizó la relación entre la profundidad de análisis de la dentina y el análisis elemental, obteniéndose que tanto en el caso del calcio como del fósforo se encontraban diferencias significativas ($p < 0,001$) entre la dentina más cercana a la pulpa y la dentina media y profunda, y en el caso del calcio también entre la dentina oclusal y profunda. Nuestros datos indican que la cantidad de calcio y fósforo aumenta desde la UAD hasta la región de dentina profunda, para luego producirse un descenso en la dentina más cercana a la pulpa, coincidiendo

con ser la última dentina secretada y que, por lo tanto, podría explicarse la menor mineralización de la misma ya que los mecanismos de secreción y mineralización de dentina circumpulpar son continuos y constantes a lo largo de la vida del diente.

Características ultraestructurales dentarias de la dentición temporal en sujetos con Osteogénesis Imperfecta

La afectación del esmalte en los sujetos con OI es controvertida, ya que aunque no ha sido ampliamente estudiada, la mayoría de autores defienden que el esmalte de los pacientes con OI no presenta alteraciones histológicas, y que su fractura o pérdida se debe a que está sujetado sobre una dentina anómala (78, 81, 104). Lindau y colaboradores (82), por otro lado, establecen que el esmalte en sujetos con OI se presenta alterado, ya que se encuentra una mineralización más irregular, que es más evidente en los dientes temporales, en la región más cercana a la UAD y en aquellos pacientes que manifiestan una DGI clínica. Hall y colaboradores (77) describen la presencia de laminillas de esmalte rotas en dientes que presentaban una apariencia normal del esmalte, por lo que no podemos determinar que un diente que no presente macroscópicamente signos de presentar un esmalte alterado pueda contener una estructura histológica dañada observada microscópicamente.

Los resultados de nuestro estudio revelan alteraciones del esmalte dental en el 60% de la muestra con OI, significativamente superiores a las encontradas en el grupo control ($p < 0.001$), siendo frecuente encontrar alteraciones leves (24%) o moderadas (32%) del esmalte en las cuales se producía una pérdida ocasional del patrón prismático, un desdibujamiento de la estructura cristalina o se mostraba fractura de los prismas de esmalte. Solamente se encontró una estructura totalmente amorfa en un sujeto de estudio, con OI tipo IV, que fue catalogado como alteración severa del esmalte dental.

Con respecto al estudio de las alteraciones de esmalte en relación al tipo de OI, Lindau y colaboradores (82) no encontraron relación entre el fenotipo sistémico (OI) y la presencia de anomalías ultraestructurales de esmalte. En nuestra muestra de estudio, aunque se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los tres tipos de OI ($p < 0.001$), no se pudieron establecer diferencias entre los tres tipos de OI, excluyendo del análisis al grupo control, por lo tanto, no se puede afirmar que exista una relación entre la alteración del esmalte y las características fenotípicas de OI. A pesar de no encontrar significación estadística, resulta relevante que las alteraciones más frecuentes en la OI tipo I sean leves, mientras que en la OI tipo III sean moderadas y en la OI tipo IV moderadas y severas.

La elevada frecuencia, 60% de alteraciones del esmalte en el presente estudio, significativa con respecto al grupo control, pone en evidencia la necesidad de contemplar que en los sujetos con OI es posible encontrar alteraciones del esmalte, aunque macroscópicamente no se manifiesten, y que por ello ha de tenerse en cuenta a la hora de diagnosticar y tratar a este grupo de pacientes. Además, aunque estadísticamente no ha podido ser corroborado, las alteraciones se presentan con mayor frecuencia y severidad en los pacientes con un fenotipo más severo de la enfermedad sistémica. Por último, aunque el mecanismo de alteración del esmalte no ha podido ser estudiado en el actual estudio, se elucida que pudiera obedecer a un origen multifactorial, viéndose entremezclados dos mecanismos patológicos. En los casos en los cuales la alteración se corresponde con una pérdida del patrón prismático de la dentina la etiología de la afectación se remonta al proceso de amelogénesis, mediante una interacción entre el ectodermo y el mesodermo subyacente, coincidiendo con Lindau y colaboradores (82); mientras que en los casos en los que se observa pérdida de esmalte, o fractura de laminillas o prismas de esmalte podría corresponderse con alteraciones secundarias del esmalte una vez

erupcionado asociado a microtraumas oclusales por estar sobre un tejido anómalo, que sería la dentina, como afirman otros autores (78, 81).

Existen múltiples estudios acerca de la afectación de la UAD en dientes de sujetos con OI, sin embargo, no existe acuerdo acerca de si se encuentra o no alterada. En algunos estudios se afirma que la UAD tiene una estructura y una función normal (24, 77, 78), mientras que otros autores afirman que la UAD presenta una pérdida del festoneado característico (81, 82).

En nuestro estudio se analizó la relación existente entre el esmalte y la dentina en la UAD, determinando si existía unión entre ambos o se había producido una separación entre ellos y a qué nivel se observaba la separación. Las diferencias encontradas en la UAD con respecto al grupo control resultaron significativas tanto en la región oclusal ($p = 0,004$) como cervical ($p < 0,001$), observándose alteraciones en la UAD en el 64% de los dientes con OI examinados a nivel oclusal y en un 72% a nivel cervical, la gran mayoría de las cuales se catalogaron como separación limpia entre el esmalte y la dentina (28% y 44% en la región oclusal y cervical respectivamente). La fractura de la UAD con restos de esmalte adherido solamente supuso un 8% de las muestras estudiadas, en las dos áreas de UAD estudiadas.

Con respecto al tipo de OI, se encontraron diferencias significativas en las dos áreas de estudio con respecto al grupo control, pero al eliminar del análisis la muestra control los resultados no resultaron significativos, por lo que no podemos establecer que las características de la UAD se relacionen con el tipo de OI. A pesar de ello, parece que la tendencia es que los fenotipos más severos de la enfermedad aúnen los casos en los que la UAD se encuentra más afectada, ya que los pacientes con OI tipo I presentan menor porcentaje de afectación de la UAD que los pacientes con fenotipo III o IV, y cuando se presentan alteraciones éstas son con frecuencia leves.

Debido a que con frecuencia la UAD se presenta alterada en los sujetos con OI, la posible fractura de la UAD debe contemplarse como una característica patológica en los pacientes con esta enfermedad sistémica. La causa más frecuente de alteración de la UAD parece corresponderse con una separación limpia entre el esmalte y la dentina, y por lo tanto podría explicarse mediante un fallo en el entrecruzamiento del esmalte y la dentina que derivaría en una peor retención mecánica entre ambos tejidos, y, por lo tanto, un déficit funcional de la UAD. Este fallo retentivo del esmalte sobre la dentina favorecería el desprendimiento del esmalte dental ante pequeños traumas.

La dentina ha sido el tejido dentario más estudiado en los pacientes con OI, ya que debido a su origen mesodérmico y al gran contenido en colágeno tipo I puede presentar severas alteraciones estructurales. Waltimo (105) describió que la dentina de los sujetos con OI presentaba una gran heterogeneidad estructural, alternando zonas aparentemente normales con regiones alteradas. En aquellas regiones en las que se observaban anomalías estructurales, las más frecuentes eran la obliteración tubular, la distribución aleatoria de las fibras colágenas en la dentina intertubular, la alteración morfológica de los túbulos dentinarios y la presencia de fibras colágenas en el interior de los túbulos. Además, observaron áreas de gran tamaño (100-830 μm de diámetro), vesiculiformes. Posteriormente, se determinó que en los dientes con DGI-I existe una mayor reactividad al colágeno tipo III y IV, y confirmó el hallazgo inicial con respecto a las alteraciones de forma y tamaño de los túbulos dentinarios, ya que se encontraban túbulos gigantes y obliterados, además de estructuras similares a canales incluidas en la dentina (106, 107). Los estudios posteriores (69, 70) también recogieron una reducción significativa en el tamaño y número de los túbulos dentinarios. Lygidakis y colaboradores (81) hipotetizaron que

la obliteración tubular se debe a material proveniente de una mineralización dentinaria secundaria, y que los canales de gran tamaño que se encuentran incluidos en la dentina podrían ser invaginaciones pulpares que quedaron atrapadas en la formación de la dentina. Kantaputra y colaboradores (102) encuentran, además de las anomalías descritas previamente, regiones de mineralización ectópica, con la presencia de una alteración morfológica de las fibras colágenas; los autores establecen que éste fenómeno pudiera obedecer a una copolimerización del colágeno normal y anómalo, ocasionando un retraso en la formación de la estructura fibrilar y por lo tanto ocasionando una menor incorporación de colágeno a la estructura fibrilar.

Los hallazgos observados en la muestra confirman los hallazgos previamente descritos, como son alteraciones en el tamaño, distribución y dirección de los túbulos dentinarios, ya que habitualmente se observaron disminuidos tanto en densidad como en tamaño, además de presentar heterogeneidad en los diámetros tubulares y en su dirección.

Con respecto a la distribución de la anomalía estructural dentinaria, la dentina de manto parece ser la región de dentina menos afectada por la anomalía estructural, ya que aunque presenta las alteraciones descritas previamente, lo hace de un modo menos marcado que en otras regiones estudiadas (70, 81). Siar (118) analizó 12 dientes con DGI en 3 puntos de la dentina de diferente profundidad y propuso la existencia de 3 patrones dentinales en base a la relación de los tres niveles estudiados. Su propuesta se basaba en el análisis de la dentina coronal en 3 puntos de diferente profundidad y en el registro de la abundancia relativa de túbulos dentinales, dentina atubular y canales o fisuras; estableciendo 3 patrones diferentes dependiendo de la relación entre los 3 niveles de la dentina estudiados. Los 3 dientes permanentes con OI analizados manifestaron una disminución de la abundancia de túbulos dentinales a medida que se profundizaba en la dentina. Hall y colaboradores (77) describieron los hallazgos dentinarios en función de la profundidad de la dentina, estableciendo que la dentina de mano es prácticamente normal y se continúa con una banda de túbulos aparentemente sin alteraciones, que finaliza abruptamente dando lugar a una región ondulada, paralela a la UAD, en la que se encuentran túbulos dentinarios completamente ocluidos. Bajo esta región encontraron túbulos dilatados y estructuras similares a canales de gran diámetro (5-10 μm de diámetro) que albergaban uno o más procesos odontoblásticos, o el mismo proceso odontoblástico retrocurvado. De Coster y colaboradores (108), coinciden con Hall y colaboradores, añadiendo que tras la región de túbulos completamente obliterados paralela a la UAD se encuentran alternadas áreas de túbulos aparentemente normales con áreas atubulares, coincidiendo en la presencia de estructuras similares a canales de gran tamaño (15-25 μm) que albergan procesos odontoblásticos en su interior. Majorana y colaboradores (24) coinciden con los dos últimos estudios, añadiendo que la dentina se presenta menos mineralizada, e hipotetizan que pudiera ser secundario a la presencia de colágeno tipo III, que podría estar actuando como un obstáculo para la mineralización dentinaria.

En nuestro estudio, analizando 4 puntos de diferente profundidad en la dentina, se observó que la dentina más externa u oclusal era la menos alterada (40%), coincidiendo con los autores previos. Tras la capa de dentina externa se encontró una dentina que se observó alterada en el 100% de las muestras, oscilando el grado de alteración entre leve y severa, dejando paso a la dentina profunda y pulpar, afectadas en un 84% y 92% de la muestra estudiada, respectivamente.

Intentando explicar este cambio estructural dentinario dependiendo de la profundidad de la dentina, y por lo tanto, dependiendo de la cronología de la dentinogénesis, Siar y colaboradores (118) hipotetiza que la disminución del recuento tubular relativo se debe a una

disminución progresiva en el número de odontoblastos funcionales a medida que avanza la dentinogénesis, y por lo tanto una pérdida de células productoras de dentina tubular. Por otro lado, Hall y colaboradores (77) hipotetizan que los odontoblastos iniciales, o preodontoblastos, son funcionalmente normales, lo cual da lugar a una dentina de manto cercana a la normalidad. El cambio hacia una dentina laminada y anómala, de aspecto ondulado, sugiere a los autores una secreción anormal y pulsátil de dentina con fibras colágenas alteradas. Por ello especulan que un posible mecanismo para explicar los hallazgos dentinarios sea que los odontoblastos disfuncionales sufren una dilatación por acumulo intracelular de procolágeno anormal y productos de degradación en el retículo endoplásmico rugoso. La matriz anormal secretada se mineraliza, envolviendo e inmovilizando al odontoblasto y su proceso, impidiendo la futura secreción de colágeno, y en algunas ocasiones provocando que el proceso odontoblástico se curve sobre sí mismo al encontrar el frente de mineralización. Inicialmente la tasa inicial de formación de dentina ($12\mu\text{m}/\text{mes}$) es significativamente inferior a la de los dientes sanos ($4\mu\text{m}/\text{día}$), pudiendo coincidir con el momento del arresto odontoblástico, sin embargo, después se produce una rápida deposición de matriz desorganizada y mineralización de la dentina que ocasiona una rápida obliteración pulpar. Posiblemente, la nueva matriz dentinaria sea secretada por células “similares a odontoblastos”, diferenciadas desde células mesenquimáticas pulpares indiferenciadas tras la necrosis de los odontoblastos disfuncionales. Las nuevas células “similares a odontoblastos” no están genéticamente programadas para la dentinogénesis y por ello continúan la formación de la dentina de una forma descontrolada.

Los resultados obtenidos en la presente investigación indican un cambio de afectación entre la dentina más externa y menos afectada, y la dentina subyacente, alterada en todos los casos, que da paso a un tejido dentinario también alterado hasta el tejido pulpar. En nuestra opinión, estos resultados apoyan la hipótesis de Hall y colaboradores (77) por la cual la primera dentina de manto sería secretada por unos odontoblastos ya alterados pero funcionales, produciéndose posteriormente un colapso de los mismos en la dentina media, para dar paso a una dentina anómala secretada por células similares a odontoblastos en la dentina profunda y pulpar.

Con respecto a las diferencias entre tipos de OI, parece que aunque los tres tipos de OI presentan anomalías estructurales similares, los pacientes con un fenotipo más severo de la enfermedad sistémica (OI tipos III o IV) presentan una mayor frecuencia de alteraciones en comparación con los sujetos con OI tipo I (69, 70), aunque otros autores no encontraron diferencias significativas entre los tipos de OI (24).

Nuestros datos revelan que la dentina procedente de sujetos con OI tipo I, el fenotipo menos severo de OI, es la menos frecuentemente alterada a nivel de la dentina oclusal y profunda; además, los sujetos con OI tipo I no presentaron dentina afectada de forma severa a nivel de la dentina oclusal y media, sino que la afectación oscilaba entre una severidad leve (en dentina oclusal) o leve-moderada (en dentina media), a diferencia de los sujetos con OI tipo III o IV, y presentándose como una afectación severa en solamente un 9,1% de la muestra en dentina profunda. Sin embargo, en la dentina pulpar la afectación oscila entre una gravedad moderada y severa en los tres tipos de OI afectados. Estos resultados confirman la hipótesis de que la severidad de la afectación sistémica y la alteración estructural dentinaria estarían relacionados, observándose un mayor porcentaje de alteraciones y más severas en los sujetos con un fenotipo más grave de la enfermedad sistémica.

Malmgren y Lindskog (70) propusieron una Escala de Dentina Displásica con 4 categorías en la que valoraron la variación en la anchura de los túbulos dentinarios, las ramificaciones de

los túbulos dentinarios, la extensión de la dentina hialina de los túbulos dentinarios, la estratificación de la dentina y la presencia de lagunas celulares en la dentina. Estudiaron 11 dientes temporales y 6 dientes permanentes, encontrando una relación clara entre la severidad de la afectación de la dentina y la severidad de la OI, que implicaba que cuanto más severa era la enfermedad sistémica, mayor era la puntuación en la Escala de Dentina Displásica. En todos los tipos de OI la puntuación en la escala fue significativamente superior al grupo control ($p < 0,001$), además de encontrar diferencias significativas ($p 0,003$) entre las puntuaciones de los sujetos con OI tipo I y III, que son respectivamente la forma más leve y más severa de la enfermedad sistémica.

La variable genérica de afectación de la dentina valoró la alteración dentinaria independientemente del punto estudiado, reuniendo los valores de la afectación dentinaria encontrada en nuestros 4 puntos de estudio de la dentina. Se encontró que todos los dientes procedentes de la muestra de estudio presentaban alteración dentinaria en mínimo uno de los puntos estudiados, por lo que la alteración de la dentina se encuentra en valores entre leves y moderados, en contra de los resultados de Levin y colaboradores (104) que describió la presencia de dientes procedentes de sujetos con OI sin alteración ultraestructural. De esta forma, encontramos que lo más frecuente en cuanto a la dentina de dientes procedentes de sujetos con OI es encontrar alteraciones moderadas (48%), seguido de alteraciones severas (40%) y, por último, alteraciones leves (12%). Además, mientras que la presencia de una dentina alterada levemente era más frecuente en OI tipo I (18,2%) que III (10%), estando ausente en los dientes de OI tipo IV, la alteración severa de la dentina se observó como lo más frecuente en la OI tipo III (70%) y lo más infrecuente en la OI tipo I (9,1%), lo cual apoya nuestra afirmación previa de que la severidad de la afectación dentinaria y sistémica está relacionada.

A pesar de que diversos autores describen una disminución en la densidad tubular (20, 69, 81, 104, 105, 107), en ninguno de los estudios se ha llevado a cabo un análisis numérico de esta variable, y por ello no se puede llevar a cabo una comparación con otras investigaciones. Lygidakis (81) hipotetiza que la reducción de la densidad tubular pueda deberse a que los túbulos dentinarios no penetran por completo en el espesor de la dentina, por lo que existe un exceso de dentina intertubular.

Nuestros resultados acerca de la densidad tubular indican que en aquellos dientes en los que los túbulos dentinarios fueron analizados en cortes longitudinales no existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo de OI ($p > 0,05$). Sin embargo, en los dientes analizados en cortes transversales se encontró un mayor recuento medio de túbulos en la dentina oclusal de los dientes procedentes de sujetos con OI (3.903,83 túbulos/mm²) que en el grupo control (313,04 túbulos/mm²), y una menor densidad tubular en la dentina pulpar en el grupo de estudio (8.617 túbulos/mm²) con respecto al grupo control (15.165,18 túbulos/mm²), teniendo significación estadística ($p < 0,05$).

El análisis del recuento tubular en relación al tipo de OI indicó la presencia de diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en el patrón de corte tubular transversal que indicaron que el recuento tubular es mayor en los sujetos con OI tipo I que en los controles en la dentina oclusal, y menor en los sujetos con OI tipo III que en el tipo I en la dentina profunda; además, la densidad media tubular es significativamente inferior en los sujetos con OI tipo III que tipo I.

Con respecto al comportamiento de la densidad tubular en los puntos de estudio de la dentina en los dientes con un patrón de corte tubular longitudinal se producía un aumento progresivo del recuento tubular desde la UAD hasta el tejido pulpar, mientras que en los dientes

con un patrón de corte transversal el recuento tubular se mantiene prácticamente estable entre la dentina profunda y pulpar.

El diámetro de los túbulos dentinarios en dientes con OI se ha descrito como disminuido en la mayoría de los artículos (69, 104), aunque algunos autores también describen la presencia de túbulos de mayor tamaño. Lygidakis y colaboradores (81) estudiaron dientes temporales y permanentes de sujetos con OI tipo I, refiriendo que los túbulos dentinarios, cuando están presentes, tienen un diámetro reducido, incluso menor a 1 μm , y que incluso pueden aparecer túbulos elongados, con un trayecto tortuoso o distribuidos de forma irregular. Hall y colaboradores (20) y Majorana y colaboradores (24) describen la presencia de estructuras similares a canales de diámetro amplio (5-10 μm) en dientes temporales, descritos también en el estudio de Coster (108) aunque con un tamaño muy superior (15-25 μm). Coster (108) describe la presencia de túbulos dentinarios de 4-16 μm en dentición permanente y 5-10 μm en dentición temporal.

El análisis del diámetro medio tubular indicó, en nuestra muestra, que no existen diferencias con respecto al grupo control en aquellos dientes en los cuales se obtuvo un corte longitudinal de los túbulos dentinarios. Sin embargo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en aquellos dientes analizados en corte transversal tubular, ya que el diámetro medio tubular en la dentina oclusal de los dientes con OI (1,58 μm) era significativamente superior al de los dientes sanos (0,59 μm).

Con respecto al análisis del diámetro tubular en base al tipo de OI, la diferencia del diámetro tubular en la región de dentina externa resultó estadísticamente significativa, ya que el diámetro era mayor en los dientes de sujetos control que en los dientes de OI tipo I; y en la región de dentina profunda, debido a que el diámetro tubular de los sujetos con OI tipo I se encontró superior al de OI tipo III.

Se analizó el comportamiento del diámetro tubular en los puntos de estudio, determinando que en el patrón de corte longitudinal el comportamiento del diámetro tubular es similar al grupo control, y, por lo tanto, se produce un aumento del diámetro tubular entre la dentina oclusal y media, para luego disminuir paulatinamente hasta la pulpa. Sin embargo, en el patrón de corte transversal, el comportamiento es diferente, ya que el aumento del diámetro tubular se produce desde la dentina oclusal hasta la media en el grupo control, y hasta la profunda en el grupo con OI, disminuyendo a medida que se acercan al tejido dentario, observándose diferencias significativas en el comportamiento del diámetro tubular en los dientes de OI tipo I.

Majorana y colaboradores (24) estudiaron un diente temporal con microscopía confocal de barrido por láser afirmando que la dentina de los sujetos con OI presenta una menor mineralización, y explican este hecho estableciendo que el aumento de colágeno tipo III podría ser un obstáculo para la mineralización.

En nuestro estudio se analizó la cantidad de calcio y fósforo, determinándose que no existen diferencias en la cantidad de calcio entre los dientes con OI y los sanos. Sin embargo, se encontró que en todas las regiones excepto la dentina pulpar, la cantidad de fósforo es significativamente menor a la encontrada en las mismas localizaciones de los dientes sanos ($p < 0,05$), además de encontrar una cantidad media de fósforo inferior al grupo control.

Con respecto al tipo de OI, se establece que existe una menor cantidad de fósforo en los dientes con OI tipo IV que en los dientes control en la dentina oclusal, no existiendo diferencias

significativas en los demás puntos de estudio ni con los otros tipos de OI. Además, no se encontraron diferencias entre los tres tipos de OI analizados y la cantidad de calcio o fósforo.

Se estudió el comportamiento de la cantidad de calcio y fósforo en los 4 puntos de estudio, determinando que existe un aumento de calcio y fósforo desde la dentina oclusal hasta la profunda, para luego volver a descender, teniendo el mismo comportamiento que el grupo control en ambos casos.

Características de la dentición temporal en sujetos con Osteogénesis Imperfecta

Las manifestaciones de la DGI-I presentan una gran heterogeneidad dependiendo del nivel estudiado, ya que se describe que pueden presentarse tanto a nivel clínico como radiográfico (66). La mayoría de los autores de la literatura previa (59, 60, 78, 84, 87, 88, 119-121) describen casos clínicos, de los cuales se establece que los signos más frecuentes de DGI-I son la discoloración dentaria, la atrición severa, el desprendimiento del esmalte, la obliteración pulpar patológica y la constricción cervical acentuada (aspecto clínico de coronas bulbosas).

En algunos estudios se establece que debido a que la administración de bisfosfonatos, administrados a los pacientes con OI desde edades muy tempranas, podrían tener efectos importantes en la formación y erupción dentaria, teniendo mayor repercusión en la dentición permanentes que en la temporal, debido a que la formación y mineralización de los dientes deciduos comienza antes del nacimiento (122).

Tradicionalmente se han considerado los signos clínicos y radiográficos como los indicadores de la presencia de DGI-I, lo cual ofrecía unas cifras de prevalencia de aproximadamente el 50% de los sujetos con OI (Tabla 47). Sin embargo, debido a que los tamaños muestrales de los estudios previos son dispares, oscilando entre 15 y 222 sujetos de estudio, y los criterios diagnósticos utilizados por los autores no son homogéneos, es complicado establecer una relación entre los diferentes estudios. Esto, unido a que la presentación de la DGI-I presenta una gran heterogeneidad, tanto en la presentación clínica y/o radiográfica como en las variaciones intra o intersujeto, hace que sea complicado establecer una adecuada definición de la alteración dental asociada a OI.

Malmgren (72) encontró alteraciones clínicas en un 42% de los sujetos que participaron en su estudio, siendo significativamente más frecuente en los sujetos con OI tipo III que en aquellos con OI tipo I o IV ($p < 0,03$). Aproximadamente el 50-63,3% de los pacientes con OI presenta una alteración del color dental (24, 66, 73), siendo más frecuente en la dentición temporal que en la permanente, suponiendo un 82% de los sujetos con OI tipo III y un 83% tipo IV en el estudio de O'Connell y Marini (54). En un reciente estudio (75) se encontraron diferencias significativas ($p < 0,001$) con respecto a la presencia de discoloración dental y el tipo de OI, encontrándose alteración del color dental de forma más frecuente en los sujetos con OI tipo III o IV (83,3% en ambos grupos) que en los que padecían un fenotipo más leve de la enfermedad, OI tipo I (5,5%). Con respecto al tipo de discoloración dental, se describe que es más frecuente encontrar una coloración amarillo-marrón que azul-grisácea (24, 54); aunque la coloración azul-grisácea es más frecuente en los sujetos con OI tipo III que en los otros fenotipos de la enfermedad, no se encuentra significación estadística entre el tipo de discoloración y el tipo de OI (24).

La atrición dental se describe como un hallazgo frecuente en los pacientes con DGI-I, existiendo gran variabilidad en cuanto a las cifras de prevalencia dependiendo del estudio; mientras que algunos autores establecieron una frecuencia de un 10,7% (73), otros establecen que supone un 15,4% (66). La abrasión se describe más frecuente en dentición temporal, suponiendo un 60% de los dientes temporales en niños menores de 6 años y un 34,6% en niños entre 6 y 12 años, frente a un 7,7% en dientes permanentes (66). En el estudio llevado a cabo por Majorana y colaboradores (24), la atrición dental se observó en el 66,6% (OI tipo IV) y 100% (OI tipos I y III) de los sujetos en dentición temporal. Se encuentra una correlación positiva entre la presencia de abrasión patológica y de discoloración dental, ya que el 80,6% de los pacientes

estudiados por Petersen y colaboradores (66) que presentaban discoloración dental también manifestaban una abrasión dental patológica, siendo además de mayor severidad cuando se presentaba asociada a una coloración dental amarillo-marrón, se acuerdo con los resultados de O'Connell y Marini (54).

En nuestro estudio se consideraron alterados clínicamente los dientes que presentaran signos de afectación clínica distinguibles de la normalidad, como fueron la discoloración, la atrición patológica o el aspecto de coronas bulbosas. De esta forma, se observó alterado un 41,2% de nuestra muestra de estudio, coincidiendo con los estudios previos.

Se estudió el tipo de discoloración dental, encontrando que los sujetos que presentaban alteraciones del color dental solamente presentaban el tipo de discoloración amarillo-marrón, no encontrando ningún sujeto con el tipo de discoloración azul-grisáceo.

Con respecto a la relación con el tipo de OI es importante considerar que los sujetos con OI tipo I no presentaron signos clínicos de afectación dental, mientras que se encontraron alteraciones en el 57,1% de los sujetos con OI tipo III y el 75% con tipo IV, que representan fenotipos más severos de OI, con resultados estadísticamente significativos. Nuestros resultados evidencian que, tanto la discoloración como la alteración clínica de los dientes, son más frecuentes en los fenotipos más severos de OI, estando de acuerdo con el estudio de Thuesen y colaboradores (75).

Schwartz y colaboradores (73) afirman que en la mayoría de los pacientes con DGI-I se puede observar algún signo de obliteración pulpar, aunque sea inicial, teniendo un comienzo temprano y pudiendo observarse ya en la adolescencia la obliteración de la mitad del tejido pulpar. La literatura previa describe una prevalencia de obliteraciones pulpares asociadas a DGI-I que oscila entre 14,8-38,89% de los sujetos con OI (66, 73), aunque también se describen extensiones pulpares en forma de maza o ampolla en el 44,44% de los pacientes con OI (66). Malmgrem (72) observó alteraciones en el tamaño pulpar en el 55% de su muestra de estudio, correspondiéndose con un tamaño inicial muy amplio y posteriormente obliterado. También se describen dientes de aspecto taurodóntico (42%), angulaciones radiculares atípicas (38,89%), impactaciones dentales (17,8-36,84%), constricciones cervicales acentuadas (33,34%), agenesias (17-22,23%), raíces cortas y/o estrechas (22,23%), lesiones quísticas o radiolucidez periapical (11,12%), dentículos (11,12%) y mesiodens (5,56%), entre otros hallazgos (66, 72, 73, 123). Malmgrem y colaboradores (123) describen que las agenesias dentales son significativamente más frecuentes en los sujetos con un fenotipo de OI más severo, OI tipo III (47%), que en los sujetos con OI tipo I (12%, p 0,003) o tipo IV (13%, p 0,017). Thuesen y colaboradores (75) encontraron una frecuencia superior de obliteraciones pulpares, raíces cortas y constricción cervical acentuada en los sujetos con OI tipo III o IV que en el tipo I (p <0,001), pero no encontraron diferencias significativas en la presencia de pulpolitos o de taurodontismo.

Según nuestro criterio, se consideraron alteraciones radiográficas cualquier hallazgo que se relacionada con agenesias, alteración del tamaño pulpar o alteraciones radiculares como una acentuación de la constricción cervical, raíces cortas y/o estrechas, angulaciones radiculares atípicas etc. En nuestra muestra se hallaron alteraciones radiográficas en el 69,2% de la muestra con OI.

Considerando el tipo de OI, se encontraron alteraciones en todos los sujetos con OI tipo IV (100%), y en algunos sujetos con OI tipo III (66,7%) y tipo I (60%). De nuevo, el fenotipo menos

severo de OI, el tipo I, es el que reúne la menor prevalencia de signos radiográficos de alteración dental, aunque sin diferencias significativas con los otros grupos de estudio.

La relación entre los signos clínico-radiográficos de DGI-I ha sido descrita previamente por algunos autores. Schwartz y Tsipouras (73) describen la asociación de la discoloración dental con hallazgos radiográficos en sujetos con OI. La alteración del color dental se asociaba a una constricción cervical acentuada, obliteración pulpar y raíces cortas y/o estrechas en el 3,7% de los casos; a una constricción cervical acentuada y obliteración pulpar en el 14,8%, y a solamente obliteración pulpar en el 42,8%.

Petersen y colaboradores (66) encontraron alteraciones clínicas en el 63,27% de su muestra de estudio (n=49), y alteraciones radiográficas en el 72,22%, de lo que se deduce que es más frecuente encontrar alteraciones radiográficas; sin embargo, las cifras de alteraciones clínicas ascienden al 90% cuando se habla exclusivamente de pacientes menores de 6 años. Los autores hallaron que en todos los casos en los que no se observaban alteraciones radiográficas asociadas a DGI-I se presentaban anomalías clínicas como discoloración o abrasión; y en aquellos que presentaban alteraciones radiográficas, el 61,54% de los pacientes presentaban discoloración dentaria y el 53,85% abrasión patológica. Levin y colaboradores (104) describen encontrar alteraciones radiográficas asociadas a DGI-I en dientes que presentan signos clínicos de afectación y Malmgren y colaboradores (123) hallaron que las agenesias dentales son más comunes en aquellos sujetos que presentan DGI-I clínica (p 0,016).

Coincidiendo con Petersen y colaboradores, en nuestra muestra se encontró un 41,2% de alteraciones clínicas y un 69,2% de alteraciones radiográficas, siendo más frecuente encontrar alteraciones radiográficas que las clínicas. Con respecto a la asociación entre alteraciones clínicas y radiográficas, en nuestro estudio se encontró que todos los sujetos que presentaban clínicamente signos de DGI-I presentaban alteraciones radiográficas, además de que el 55,6% de los que no manifestaban signos clínicos presentaba hallazgos patológicos radiográficos. A pesar de que las diferencias encontradas no son significativas, es importante considerar que la presencia clínica de DGI-I se encontró siempre asociada a signos radiográficos patológicos, y que, por lo tanto, puede servir como un marcador de la posible alteración radiográfica. Sin embargo, debido a que en otros estudios como el realizado por Petersen y colaboradores se observan signos clínicos independientemente de los radiográficos, lo contrario a lo observado en nuestro estudio, esta relación debe tomarse con cautela.

Lygidakis y colaboradores (81) estudiaron dientes temporales y permanentes de sujetos con OI tipo I, encontrando que mientras que todos los dientes signos clínicos o radiográficos de DGI-I tenían alteraciones ultraestructurales en la dentina, solamente el 50% de los dientes que clínica o radiográficamente no padecían DGI-I presentaban alteraciones al ser observadas con el MEB, y cuando se presentaban eran menos severas que en los dientes con DGI-I clínica.

Lindau (69) encontró alteraciones de los túbulos dentinarios en 14 dientes temporales y 3 permanentes que presentaban signos de DGI-I, frente a 1 diente temporal y 4 dientes permanentes que no presentaba signos clínico-radiográficos de alteraciones dentarias. Además, encontraron otros signos de alteraciones ultraestructurales como dentina reparativa, inclusiones en la dentina, obliteraciones pulpares y regiones desestructuradas en 8 dientes temporales y 18 permanentes con signos de DGI-I, y en 11 dientes temporales y 15 dientes permanentes sin signos de DGI-I. Estos resultados indican que las anomalías estructurales de los túbulos dentinarios son más frecuentes cuando se observan signos de DGI-I en dentición temporal, pero no en la dentición permanente; y que la alteración ultraestructural no se

relaciona la presencia de otros signos de alteración ultraestructural con la presencia o ausencia de DGI-I.

La alteración dentaria a nivel ultraestructural se presentó en todos los sujetos con OI, independientemente de presentar o no signos clínicos y/o radiográficos. Si analizamos el grado de alteración estructural, el 71,4% de los sujetos que presentaban signos clínicos de DGI-I padecían una alteración severa de la estructura dentinaria, mientras que los sujetos que clínicamente no padecían alteraciones dentales asociadas a la OI presentaban frecuentemente una alteración estructural moderada (60%). En el caso de las alteraciones radiográficas, lo más frecuente era encontrar una alteración estructural moderada, independientemente de que presentaran o no signos radiográficos patológicos (55,6% y 50% respectivamente). Por lo tanto, aunque no se encontraron diferencias significativas, la presentación de signos clínicos asociados a la OI parece ser un marcador de severidad de la alteración estructural dentinaria, aunque no pueden utilizarse con ese fin los signos radiográficos.

Malmgren (72) clasificó 59 sujetos con OI en 4 grupos en base a la severidad de las alteraciones dentales. Estos grupos estaban formados por el grupo sin anomalías o grupo cero, el grupo 1 con DGI-I solo visible radiográficamente, el grupo 2 con discoloración media y 3-5 agenesias dentarias y el grupo 3 con discoloración severa, 6 o más agenesias dentarias y/o impactación de molares permanentes. La mayoría de los sujetos con OI presentaron alteraciones severas (47,46%), siendo más frecuentes en los sujetos con OI tipo III (71,42%) que en los sujetos con OI tipo I (33,34%) o tipo IV (58,33%).

Malmgren y Lindskog (70) relacionaron dos sistemas de clasificación semicuantitativos, la escala clínico-radiográfica y la escala de dentina displásica para analizar las manifestaciones de la displasia dentinaria, estudiando 81 dientes de 40 sujetos. Los resultados indicaron una asociación entre la escala clínico-radiográfica y la escala de dentina displásica, aunque en algunos de los casos no se había diagnosticado DGI-I por la ausencia de criterios clínico-radiográficos de alteración. Por ello, la escala de dentina displásica prueba la existencia de alteraciones histológicas subclínicas en dientes que clínica o radiográficamente no presentan alteraciones, y proponen que no se incluyan en el diagnóstico de DGI-I, sino que se denominen manifestaciones de la displasia dentinal asociada a la OI, ya que son el reflejo de las anomalías genéticas.

Debido a que en el presente estudio se encontraron alteraciones ultraestructurales en todos los dientes temporales estudiados, se propone utilizar solamente los criterios clínicos y radiográficos para categorizar la implicación dental en la OI, teniendo en cuenta que, aunque no se presenten alteraciones clínicas o radiográficas se encuentran anomalías estructurales histológicas. Con respecto al diagnóstico de DGI-I, nuestra opinión es que la presencia de alteraciones subclínicas de anomalías debería contemplarse como una patología asociada a la DGI-I, y por lo tanto considerarse dentro de ella, y no aislarlas del diagnóstico de DGI-I como proponen Malmgren y Lindskog.

Así, el 30,8% de la muestra de estudio no presentó alteraciones clínico-radiográficas, el 38,5% presentó alteraciones radiográficas y en el 30,8% se observaron signos patológicos a nivel clínico y radiográfico, presentándose en todos los casos alteraciones ultraestructurales de la dentina.

Dependiendo del tipo de OI, ningún sujeto con OI tipo I presentó alteraciones a nivel clínico y radiográfico simultáneamente, mientras que supusieron el 50% de los sujetos con OI tipo III y IV. Por lo tanto, vuelve a repetirse el patrón de la relación entre la severidad de la

afectación sistémica y dental, aunque sin diferencias estadísticamente significativas entre los tres tipos de OI ($p>0,05$).

Se estudió la relación entre la severidad de la afectación dental y la severidad de la alteración ultraestructural, encontrando que el 75% de los sujetos que presentaban alteraciones a nivel clínico y radiográfico tenía una alteración ultraestructural severa, mientras que este porcentaje descendía a un 25% si se contemplaban sujetos sin signos clínicos o radiográficos patológicos. Además, el 80% de los sujetos que solamente tenía alteración a nivel radiográfico presentaba una alteración moderada. A pesar de que los resultados no fueron significativos ($p>0,05$), los hallazgos parecen indicar que la asociación de los signos clínicos y radiográficos patológicos suele conllevar a una alteración estructural más severa que cuando éstos están ausentes o la alteración es solo a nivel radiográfico.

Debilidades y fortalezas del estudio

En el presente estudio se encuentran algunas debilidades y fortalezas que han de ser analizadas para mejorar el método y poder establecer posibles líneas de investigación futuras.

Entre las debilidades del presente estudio se encuentra el pequeño tamaño muestral, que en algunos puntos del estudio llevó a la utilización de tests estadísticos no paramétricos o a la utilización de una significación exacta, lo cual disminuye la potencia estadística. Además, debido a que el estudio se ha realizado en dientes temporales, anatómicamente diferentes a los dientes permanentes, no es posible extrapolar nuestros resultados a la dentición permanente, que a pesar de estar en general menos afectados que los temporales según los estudios previos, son los que más dudas y problemas causan a los pacientes con OI ya que los acompañan durante toda la vida. Por último, debido a que la clasificación de OI utilizada sigue criterios clínicos y radiográficos de severidad, es frecuente que los pacientes cambien de estadio en la clasificación a lo largo de la vida, por lo que los resultados de este estudio son interpretables en el momento actual de los pacientes; sería interesante poder contar con todos los estudios genéticos de los pacientes y poder establecer una relación entre la afectación genética y la afectación dental.

La principal fortaleza del estudio está relacionada con la primera debilidad, y es que, a pesar de que el tamaño muestral de la muestra de estudio no es muy numerosa, hay que tener en cuenta que la población de estudio tiene una enfermedad rara, y por lo tanto, de poca prevalencia, por lo que la obtención de la muestra es complicada y por ello en los estudios previos la muestra de dientes de pacientes con OI no es tampoco muy numerosa, por lo que consideramos que nuestra muestra tiene un tamaño razonable. El contar con una muestra control de dientes sanos con la que poder establecer la normalidad estructural dentaria y que permite la comparación de la muestra de estudio aumenta la fiabilidad de los resultados. Además, en el presente estudio se han llevado a cabo mediciones en varios sitios establecidos metódicamente, y la toma de variables tanto cualitativas como cuantitativas, lo cual hace que la fortaleza del estudio aumente.

Por último, resumiendo lo expuesto anteriormente, sería interesante aumentar la muestra de estudio, obteniendo un mayor número de sujetos de estudio que pudieran corroborar los resultados del presente estudio, aumentando la potencia estadística y pudiendo establecer una clasificación de la DGI-I de acuerdo a la presencia de signos clínico-radiográficos en relación a la severidad de la alteración ultraestructural. Además, sería interesante poder

realizar el estudio contando con dientes permanentes que permitieran analizar la afectación de la dentición permanente de los pacientes con OI.

Una vez estudiada las características de la dentición de los pacientes con OI y desde el conocimiento de que con frecuencia éstos necesitan tratamiento protodónico y restaurador, se propone una nueva línea de investigación que analice la unión y/o adhesión de los cementos y materiales restauradores utilizados actualmente en Odontología, con el objetivo de mejorar la terapéutica dental y rehabilitación oral, que permitiera una mejor toma de decisiones a la hora de rehabilitar los pacientes.

CONCLUSIONES

1. Se observan anomalías estructurales en el esmalte (60%), unión amelodentinaria tanto a nivel oclusal (64%) como cervical (72%) y en la dentina (100%) de los dientes de pacientes con Osteogénesis Imperfecta.
2. Las anomalías estructurales observadas en los dientes de pacientes con Osteogénesis Imperfecta son más frecuentes y severas en los fenotipos más graves de Osteogénesis Imperfecta (tipos III y IV), aunque estadísticamente solo resulta relevante la diferencia de la dentina oclusal.
3. Existe una menor densidad tubular de los dientes con Osteogénesis Imperfecta con respecto a los dientes sanos en la dentina pulpar, y un aumento tanto del diámetro como de la densidad tubular en la dentina oclusal, con diferencias estadísticamente significativas.
4. Se encuentra un aumento del recuento medio tubular, y un mayor recuento y diámetro tubular en la dentina profunda en los pacientes con Osteogénesis Imperfecta tipo I con respecto al tipo III.
5. La cantidad de calcio dentinario en los dientes de sujetos con Osteogénesis Imperfecta es similar al grupo control. Sin embargo, existe una disminución del fósforo dentinario en el grupo de dientes de pacientes con Osteogénesis Imperfecta con respecto a los dientes sanos, con diferencias estadísticamente significativas.
6. No existen diferencias significativas en la cantidad de calcio y fósforo dentinario y la severidad de la Osteogénesis Imperfecta según la clasificación de Sillence.
7. Se encuentran signos clínicos de Dentinogénesis Imperfecta tipo I en el 41,2% de los pacientes, siendo más frecuentes en los fenotipos más severos de Osteogénesis Imperfecta y estando ausentes en los pacientes con Osteogénesis Imperfecta tipo I, con significación estadística. Se observan signos radiográficos en el 69,2% de la muestra. Se presentaron alteraciones ultraestructurales dentinarias en todos los casos.
8. Con respecto a la relación entre los hallazgos clínicos y radiográficos, un 30,8% de nuestra muestra no presentaba signos clínicos ni radiográficos de Dentinogénesis Imperfecta tipo a pesar de tener alteraciones estructurales de la dentina. La presencia de anomalías radiográficas de Dentinogénesis Imperfecta tipo supuso un 38,5% de la muestra estudiada y la existencia de signos simultáneos clínico-radiográficos de Dentinogénesis Imperfecta tipo un 30,8%.
9. Las alteraciones dentinarias severas son más frecuentes en los pacientes con signos clínicos y radiográficos de Dentinogénesis Imperfecta tipo, mientras que las alteraciones dentinarias moderadas son más frecuentes en aquellos pacientes con una manifestación exclusivamente radiográfica, aunque sin significación estadística.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS_

1. Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz A. Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental/Histology, embryology and oral tissue engineering. 3ª Edición ed. Ed. Médica Panamericana; 2009.
2. Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ. Oral Anatomy, Histology and Embryology. 4 edition ed. Mosby; 2009.
3. Nanci A. Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function. 7th ed. Elsevier Health Sciences; 2007.
4. Zhang YD, Zhi C, Song YQ, Chao L, Chen YP. Making a tooth: growth factors, transcription factors, and stem cells. *Cell Res.* 2005;15(5):301.
5. Jernvall J, Thesleff I. Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis. *Mech Dev.* 2000;92(1):19-29.
6. Thesleff I, Sharpe P. Signalling networks regulating dental development. *Mech Dev.* 1997;67(2):111-23.
7. Kodaka T, Kuroiwa M, Higashi S. Structural and distribution patterns of surface 'prismless' enamel in human permanent teeth. *Caries Res.* 1991;25(1):7-20.
8. Hørsted M, Fejerskov O, Larsen J, Thylstrup A. The structure of surface enamel with special reference to occlusal surfaces of primary and permanent teeth. *Caries Res.* 1976;10(4):287-96.
9. Ripa LW, Gwinnett AJ, Buonocore MG. The "prismless" outer layer of deciduous and permanent enamel. *Arch Oral Biol.* 1966;11(1):IN5.
10. Whittaker DK. Structural variations in the surface zone of human tooth enamel observed by scanning electron microscopy. *Arch Oral Biol.* 1982;27(5):383-92.
11. Lenzi TL, Camila de Almeida, B Guglielmi, Arana-Chavez VE, Raggio DP. Tubule density and diameter in coronal dentin from primary and permanent human teeth. *Microscopy and Microanalysis.* 2013;19(6):1445-9.
12. Charlier P, Perciaccante A, Bianucci R. Oldest medical description of osteogenesis imperfecta (17th Century, France). *Clinical Anatomy.* 2017;30(2):128-9.
13. Ekman OJ. *Dissertatio medica descriptionem et casus aliquot osteomalaciæ sistens, quam venia experientiss.[dissertation].* ; 1788.
14. Sillence DO. Osteogenesis imperfecta nosology and genetics. *Ann N Y Acad Sci.* 1988;543(1):1-16.
15. Gutiérrez-Díez MP, Gutiérrez MM, Tato LP, García JP, Sánchez AB. Osteogénesis Imperfecta: Nuevas Perspectivas Osteogenesis imperfecta: new insights. *Rev Esp Endocrinol Pediatr.* 2013;4(1):107-18.
16. Forlino A, Marini JC. Osteogenesis imperfecta. *The Lancet.* 2016;387(10028):1657-71.

17. Van Dijk FS, Sillence DO. Osteogenesis imperfecta: clinical diagnosis, nomenclature and severity assessment. *Am J Med Genet A*. 2014;164A(6):1470-81.
18. Huber MA. Osteogenesis imperfecta. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;103(3):314-20.
19. Glorieux FH. Osteogenesis imperfecta. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2008;22(1):85-100.
20. Hall RK, Manière MC, Palamara J, Hemmerlé J. Odontoblast dysfunction in osteogenesis imperfecta: an LM, SEM, and ultrastructural study. *Connect Tissue Res*. 2002;43(2-3):401-5.
21. Hoyer-Kuhn H, Netzer C, Semler O. Osteogenesis imperfecta: pathophysiology and treatment. *Wien Med Wochenschr*. 2015;165(13-14):278-84.
22. Fratzl-Zelman N, Misof BM, Roschger P, Klaushofer K. Classification of osteogenesis imperfecta. *Wien Med Wochenschr*. 2015;165(13-14):264-70.
23. Chu ML, Williams CJ, Pepe G, Hirsch JL, Prockop DJ, Ramirez F. Internal deletion in a collagen gene in a perinatal lethal form of osteogenesis imperfecta. *Nature*. 1983;304(5921):78-80.
24. Majorana A, Bardellini E, Brunelli PC, Lacaita M, Cazzolla AP, Favia G. Dentinogenesis imperfecta in children with osteogenesis imperfecta: a clinical and ultrastructural study. *Int J Paediatr Dent*. 2010;20(2):112-8.
25. Martin E, Shapiro JR. Osteogenesis imperfecta: epidemiology and pathophysiology. *Curr Osteoporos Rep*. 2007;5(3):91-7.
26. Barnes AM, Chang W, Morello R, Cabral WA, Weis M, Eyre DR, et al. Deficiency of cartilage-associated protein in recessive lethal osteogenesis imperfecta. *N Engl J Med*. 2006;355(26):2757-64.
27. Marini JC, Blissett AR. New genes in bone development: what's new in osteogenesis imperfecta. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(8):3095-103.
28. Christiansen HE, Schwarze U, Pyott SM, AlSwaid A, Al Balwi M, Alrasheed S, et al. Homozygosity for a missense mutation in SERPINH1, which encodes the collagen chaperone protein HSP47, results in severe recessive osteogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet*. 2010;86(3):389-98.
29. Rauch F, Glorieux FH. Osteogenesis imperfecta. *Lancet*. 2004;363(9418):1377-85.
30. Arponen H, Mäkitie O, Haukka J, Ranta H, Ekholm M, Mäyränpää MK, et al. Prevalence and natural course of craniocervical junction anomalies during growth in patients with osteogenesis imperfecta. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2012;27(5):1142-9.
31. Ríos-Rodenas M, de Nova J, Gutiérrez-Díez M, Feijóo G, Mourelle M, Garcilazo M, et al. A cephalometric method to diagnosis the craniovertebral junction abnormalities in osteogenesis imperfecta patients. *J Clin Exp Dent*. 2015;7(1):e158.

32. Glorieux FH, Ward LM, Rauch F, Lalic L, Roughley PJ, Travers R. Osteogenesis imperfecta type VI: a form of brittle bone disease with a mineralization defect. *J Bone Miner Res*. 2002;17(1):30-8.
33. Sillence DO, Senn A, Danks DM. Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta. *J Med Genet*. 1979;16(2):101-16.
34. Wallis GA, Sykes B, Byers PH, Mathew CG, Viljoen D, Beighton P. Osteogenesis imperfecta type III: mutations in the type I collagen structural genes, COL1A1 and COL1A2, are not necessarily responsible. *J Med Genet*. 1993;30(6):492-6.
35. Glorieux FH, Rauch F, Plotkin H, Ward L, Travers R, Roughley P, et al. Type V osteogenesis imperfecta: a new form of brittle bone disease. *J Bone Miner Res*. 2000;15(9):1650-8.
36. Ward LM, Rauch F, Travers R, Chabot G, Azouz EM, Lalic L, et al. Osteogenesis imperfecta type VII: an autosomal recessive form of brittle bone disease. *Bone*. 2002;31(1):12-8.
37. Warman ML, Cormier-Daire V, Hall C, Krakow D, Lachman R, LeMerrer M, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2010 revision. *Am J Med Genet A*. 2011;155A(5):943-68.
38. Aglan MS, Hosny L, El-Houssini R, Abdelhadi S, Salem F, Elbanna RAS, et al. A scoring system for the assessment of clinical severity in osteogenesis imperfecta. *J Child Orthop*. 2012;6(1):29-35.
39. Marr C, Seasman A, Bishop N. Managing the patient with osteogenesis imperfecta: a multidisciplinary approach. *Journal of multidisciplinary healthcare*. 2017;10:145.
40. Mueller B, Engelbert R, Baratta-Ziska F, Bartels B, Blanc N, Brizola E, et al. Consensus statement on physical rehabilitation in children and adolescents with osteogenesis imperfecta. *Orphanet journal of rare diseases*. 2018;13(1):158.
41. Ruck J, Dahan-Oliel N, Montpetit K, Rauch F, Fassier F. Fassier–Duval femoral rodding in children with osteogenesis imperfecta receiving bisphosphonates: functional outcomes at one year. *Journal of children's orthopaedics*. 2011;5(3):217-24.
42. Esposito P, Plotkin H. Surgical treatment of osteogenesis imperfecta: current concepts. *Curr Opin Pediatr*. 2008;20(1):52-7.
43. Nicolaou N, Bowe JD, Wilkinson JM, Fernandes JA, Bell MJ. Use of the Sheffield telescopic intramedullary rod system for the management of osteogenesis imperfecta: clinical outcomes at an average follow-up of nineteen years. *JBJS*. 2011;93(21):1994-2000.
44. Zeitlin L, Fassier F, Glorieux FH. Modern approach to children with osteogenesis imperfecta. *Journal of Pediatric Orthopaedics B*. 2003;12(2):77-87.
45. Astrom E, Soderhall S. Beneficial effect of long term intravenous bisphosphonate treatment of osteogenesis imperfecta. *Arch Dis Child*. 2002 May;86(5):356-64.
46. Primorac D, Rowe DW, Mottes M, Barisic I, Anticevic D, Mirandola S, et al. Osteogenesis imperfecta at the beginning of bone and joint decade. *Croat Med J*. 2001;42(4):393-415.

47. Garganta MD, Jaser SS, Lazow MA, Schoenecker JG, Cobry E, Hays SR, et al. Cyclic bisphosphonate therapy reduces pain and improves physical functioning in children with osteogenesis imperfecta. *BMC musculoskeletal disorders*. 2018;19(1):344.
48. Hoyer-Kuhn H, Franklin J, Allo G, Kron M, Netzer C, Eysel P, et al. Safety and efficacy of denosumab in children with osteogenesis imperfecta-a first prospective trial. *J Musculoskelet Neuron Interact*. 2016;16(1):24.
49. Marom R, Lee Y, Grafe I, Lee B. Pharmacological and biological therapeutic strategies for osteogenesis imperfecta. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*; Wiley Online Library; 2016.
50. Chang PC, Lin SY, Hsu KH. The craniofacial characteristics of osteogenesis imperfecta patients. *Eur J Orthod*. 2007 Jun;29(3):232-7.
51. van Dijk FS, Cobben JM, Kariminejad A, Maugeri A, Nikkels PGJ, van Rijn RR, et al. Osteogenesis Imperfecta: A Review with Clinical Examples. *Mol Syndromol*. 2011;2(1):1-20.
52. Waltimo-Sirén J, Kolkka M, Pynnönen S, Kuurila K, Kaitila I, Kovero O. Craniofacial features in osteogenesis imperfecta: a cephalometric study. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2005;133(2):142-50.
53. Retrouvey J, Schwartz S, Hartsfield JK. Oral-facial aspects of osteogenesis imperfecta. In: *Osteogenesis Imperfecta*. Elsevier; 2014. p. 313-27.
54. O'Connell AC, Marini JC. Evaluation of oral problems in an osteogenesis imperfecta population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1999;87(2):189-96.
55. Retrouvey J, Taqi D, Tamimi F, Dagdeviren D, Glorieux FH, Lee B, et al. Dental and facial characteristics of osteogenesis imperfecta type V. *bioRxiv*. 2018:413633.
56. Jabbour Z, Al-Khateeb A, Eimar H, Retrouvey JM, Rizkallah J, Glorieux FH, et al. Genotype and malocclusion in patients with osteogenesis imperfecta. *Orthodontics & craniofacial research*. 2018;21(2):71-7.
57. Nguyen MS, Binh HD, Nguyen KM, Maasalu K, Köks S, Märtson A, et al. Occlusal features and need for orthodontic treatment in persons with osteogenesis imperfecta. *Clinical and experimental dental research*. 2017;3(1):19-24.
58. Vuorimies I, Arponen H, Valta H, Tiesalo O, Ekholm M, Ranta H, et al. Timing of dental development in osteogenesis imperfecta patients with and without bisphosphonate treatment. *Bone*. 2017;94:29-33.
59. Subramaniam P, Mathew S, Sugnani SN. Dentinogenesis imperfecta: a case report. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2008;26(2):85-7.
60. Teixeira CS, Santos Felipe MC, Tadeu Felipe W, Silva-Sousa Y, Sousa-Neto M. The role of dentists in diagnosing osteogenesis imperfecta in patients with dentinogenesis imperfecta. *J Am Dent Assoc*. 2008;139(7):906-14.

61. Pallos D, Hart PS, Cortelli JR, Vian S, Wright JT, Korkko J, et al. Novel COL1A1 mutation (G559C) [correction of G599C] associated with mild osteogenesis imperfecta and dentinogenesis imperfecta. *Arch Oral Biol.* 2001;46(5):459-70.
62. Shields ED, Bixler D, el-Kafrawy A. A proposed classification for heritable human dentine defects with a description of a new entity. *Arch Oral Biol.* 1973;18(4):543-53.
63. Sillence DO. Osteogenesis imperfecta nosology and genetics. *Ann N Y Acad Sci.* 1988;543:1-15.
64. Lin H, Chuang C, Su Y, Chen M, Chiu H, Niu D, et al. Genotype and phenotype analysis of Taiwanese patients with osteogenesis imperfecta. *Orphanet journal of rare diseases.* 2015;10(1):1.
65. Hart PS, Hart TC. Disorders of human dentin. *Cells Tissues Organs.* 2007;186(1):70-7.
66. Petersen K, Wetzel WE. Recent findings in classification of osteogenesis imperfecta by means of existing dental symptoms. *ASDC J Dent Child.* 1998;65(5):9, 354.
67. Lukinmaa PL, Ranta H, Ranta K, Kaitila I. Dental findings in osteogenesis imperfecta: I. Occurrence and expression of type I dentinogenesis imperfecta. *J Craniofac Genet Dev Biol.* 1987;7(2):115-25.
68. Lund AM, Jensen BL, Nielsen LA, Skovby F. Dental manifestations of osteogenesis imperfecta and abnormalities of collagen I metabolism. *J Craniofac Genet Dev Biol.* 1998;18(1):30-7.
69. Lindau B, Dietz W, Lundgren T, Storhaug K, Norén JG. Discrimination of morphological findings in dentine from osteogenesis imperfecta patients using combinations of polarized light microscopy, microradiography and scanning electron microscopy. *Int J Paediatr Dent.* 1999;9(4):253-61.
70. Malmgren B, Lindsog S. Assessment of dysplastic dentin in osteogenesis imperfecta and dentinogenesis imperfecta. *Acta Odontol Scand.* 2003;61(2):72-80.
71. Lindahl K, Åström E, Rubin C, Grigelioniene G, Malmgren B, Ljunggren Ö, et al. Genetic epidemiology, prevalence, and genotype-phenotype correlations in the Swedish population with osteogenesis imperfecta. *Eur J Hum Genet.* 2015;23(8):1042-50.
72. Malmgren B, Norgren S. Dental aberrations in children and adolescents with osteogenesis imperfecta. *Acta Odontol Scand.* 2002;60(2):65-71.
73. Schwartz S, Tsipouras P. Oral findings in osteogenesis imperfecta. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology.* 1984;57(2):161-7.
74. Binh HD, Maasalu K, Dung VC, Ngoc CTB, Hung TT, Nam TV, et al. The clinical features of osteogenesis imperfecta in Vietnam. *Int Orthop.* 2017;41(1):21-9.
75. Thuesen KJ, Gjørup H, Hald JD, Schmidt M, Harsløf T, Langdahl B, et al. The dental perspective on osteogenesis imperfecta in a Danish adult population. *BMC oral health.* 2018;18(1):175.

76. Barron MJ, McDonnell ST, Mackie I, Dixon MJ. Hereditary dentine disorders: dentinogenesis imperfecta and dentine dysplasia. *Orphanet J Rare Dis*. 2008;3:31.
77. Hall RK, Manière M, Palamara J, Hemmerle J. Odontoblast dysfunction in osteogenesis imperfecta: an LM, SEM, and ultrastructural study. *Connect Tissue Res*. 2002;43(2-3):401-5.
78. Devaraju D, Devi BY, Vasudevan V, Manjunath V. Dentinogenesis imperfecta type I: A case report with literature review on nomenclature system. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2014;18:S134.
79. Kim J, Simmer JP. Hereditary dentin defects. *J Dent Res*. 2007;86(5):392-9.
80. Shapira S. Dentinogenesis imperfecta: an early treatment strategy. *Pediatr Dent*. 2001;23(3).
81. Lygidakis NA, Smith R, Oulis CJ. Scanning electron microscopy of teeth in osteogenesis imperfecta type I. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1996;81(5):567-72.
82. Lindau BM, Dietz W, Hoyer I, Lundgren T, Storhaug K, Norén JG. Morphology of dental enamel and dentine-enamel junction in osteogenesis imperfecta. *Int J Paediatr Dent*. 1999;9(1):13-21.
83. Council O. Guideline on Dental Management of Heritable Dental Developmental Anomalies. . 2009.
84. Muhney K, Campbell PR. Pediatric dental management of a patient with osteogenesis imperfecta and dentinogenesis imperfecta. *Spec Care Dentist*. 2007;27(6):240-5.
85. Mayordomo FG, Estrela F, de Aldecoa EA. Dentinogenesis imperfecta: a case report. *Quintessence Int*. 1992;23(12).
86. Gibbard PD. The management of children and adolescents suffering from amelogenesis imperfecta and dentinogenesis imperfecta. *J Oral Rehabil*. 1974;1(1):55-66.
87. Biria M, Abbas FM, Mozaffar S, Ahmadi R. Dentinogenesis imperfecta associated with osteogenesis imperfecta. *Dent Res J (Isfahan)*. 2012;9(4):489-94.
88. Bencharit S, Border MB, Mack CR, Byrd WC, Wright JT. Full-Mouth Rehabilitation for a Patient With Dentinogenesis Imperfecta: A Clinical Report. *J Oral Implantol*. 2014;40(5):593-600.
89. Pettiette MT, Wright JT, Trope M. Dentinogenesis imperfecta: endodontic implications: Case report. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 1998;86(6):733-7.
90. Bidra AS, Uribe F. Successful bleaching of teeth with dentinogenesis imperfecta discoloration: a case report. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. 2011;23(1):3-10.
91. Bouvier D, Duprez J, Morrier J, Bois D. Strategies for rehabilitation in the treatment of dentinogenesis imperfecta in a child: a clinical report. *J Prosthet Dent*. 1996;75(3):238-41.
92. Goud A, Deshpande S. Prosthodontic rehabilitation of dentinogenesis imperfecta. *Contemp Clin Dent*. 2011 Apr;2(2):138-41.

93. Caicedo-Rubio M, Ferrés-Amat E, Ferrés-Padró E. Implant-supported fixed prostheses in a Patient with Osteogenesis Imperfecta: A 4-year follow-up. *Journal of clinical and experimental dentistry*. 2017;9(12):e1482.
94. Darendeliler-Kaba A, Marechaux SC. Hereditary dentinogenesis imperfecta: a treatment program using an overdenture. *ASDC J Dent Child*. 1992;59(4):273-6.
95. Crowell MD. Dentinogenesis imperfecta: a case report. *American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics*. 1998;114(4):367-71.
96. Roh W, Kang S, Kim S. Multidisciplinary approach for a patient with dentinogenesis imperfecta and anterior trauma. *American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics*. 2010;138(3):352-60.
97. Binger T, Rücker M, Spitzer WJ. Dentofacial rehabilitation by osteodistraction, augmentation and implantation despite osteogenesis imperfecta. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2006;35(6):559-62.
98. Zola MB. Staged sinus augmentation and implant placement in a patient with osteogenesis imperfecta. *Journal of oral and maxillofacial surgery*. 2000;58(4):443-7.
99. Prabhu N, Duckmanton N, Stevenson AR, Cameron A. The placement of osseointegrated dental implants in a patient with type IV B osteogenesis imperfecta: a 9-year follow-up. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2007;103(3):349-54.
100. Napoli JA, Scotland E. Maxillary Distraction Osteogenesis in a Patient with Osteogenesis Imperfecta. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2018;76(10):e49.
101. Kindelan J, Tobin M, Roberts-Harry D, Loukota RA. Orthodontic and orthognathic management of a patient with osteogenesis imperfecta and dentinogenesis imperfecta: a case report. *J Orthod*. 2015.
102. Kantaputra PN, Sirirungruangsarn Y, Intachai W, Ngamphiw C, Tongsimma S, Dejkharnon P. Osteogenesis imperfecta with ectopic mineralizations in dentin and cementum and a COL1A2 mutation. *J Hum Genet*. 2018:1.
103. Takagi Y, Koshiba H, Kimura O, Kuboki Y, Sasaki S. Dentinogenesis imperfecta: evidence of qualitative alteration in the organic dentin matrix. *J Oral Pathol*. 1980;9(4):201-9.
104. Levin LS, Brady JM, Melnick M. Scanning electron microscopy of teeth in dominant osteogenesis imperfecta: support for genetic heterogeneity. *Am J Med Genet*. 1980;5(2):189-99.
105. Waltimo J. Hyperfibers and vesicles in dentin matrix in dentinogenesis imperfecta (DI) associated with osteogenesis imperfecta (OI). *J Oral Pathol Med*. 1994;23(9):389-93.
106. Waltimo J, Risteli L, Risteli J, Lukinmaa PL. Altered collagen expression in human dentin: increased reactivity of type III and presence of type VI in dentinogenesis imperfecta, as revealed by immunoelectron microscopy. *J Histochem Cytochem*. 1994;42(12):1593-601.

107. Waltimo J, Ojanotko-Harri A, Lukinmaa PL. Mild forms of dentinogenesis imperfecta in association with osteogenesis imperfecta as characterized by light and transmission electron microscopy. *J Oral Pathol Med*. 1996;25(5):256-64.
108. De Coster PJ, Cornelissen M, De Paepe A, Martens LC, Vral A. Abnormal dentin structure in two novel gene mutations [COL1A1, Arg134Cys] and [ADAMTS2, Trp795-to-ter] causing rare type I collagen disorders. *Arch Oral Biol*. 2007;52(2):101-9.
109. Sánchez Fernández P, Aguilar de Armas I, Fuentelsaz Gallego C, Teresa Moreno Casbas M, Hidalgo García R. Fiabilidad de los instrumentos de medición en ciencias de la salud. *Enfermería Clínica*. 2005;15(4):227-36.
110. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33(1):159-74.
111. Sumikawa DA, Marshall GW, Gee L, Marshall SJ. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatr Dent*. 1999;21(7):439-44.
112. Koutsis V, Noonan RG, Horner JA, Simpson MD, Matthews WG, Pashley DH. The effect of dentin depth on the permeability and ultrastructure of primary molars. *Pediatr Dent*. 1994;16:29.
113. Schilke R, Lisson JA, Bauß O, Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol*. 2000;45(5):355-61.
114. Ruschel HC, Chevitarese O. Density and diameter of dentinal tubules of first and second primary human molars-comparative scanning electron microscopy study. *J Clin Pediatr Dent*. 2002;26(3):297-304.
115. Derise NL, Ritchey SJ, Furr AK. Mineral composition of normal human enamel and dentin and the relation of composition to dental caries: I. Macrominerals and comparison of methods of analyses. *J Dent Res*. 1974;53(4):847-52.
116. Saiki M, Adachi LK, Adachi EM. Elemental comparison in sound and carious human teeth by instrumental neutron activation analysis. *J Radioanal Nucl*. 2009;282(1):29.
117. LAKOMAA E, RYTÖMAA I. Mineral composition of enamel and dentin of primary and permanent teeth in Finland. *Eur J Oral Sci*. 1977;85(2):89-95.
118. Siar CH. Quantitative histological analysis of the human coronal dentine in dentinogenesis imperfecta types I and II. *Arch Oral Biol*. 1986;31(6):387-90.
119. Knežević A, Tarle Z, Pandurić V. Esthetic Reconstruction of Teeth in Patient with Dentinogenesis Imperfecta—A Case Report. *Coll Antropol*. 2006;30(1):231-4.
120. Lingaraju N, Nagarathna PJ, Vijayalakshmi R, Sheshadri P. Osteogenesis imperfecta/lobstein syndrome associated with dentinogenesis imperfecta. *J Contemp Dent Pract*. 2013;14(1):140-2.
121. Ogunsalu C, Hanchard B. Familial tarda type osteogenesis imperfecta with dentinogenesis imperfecta Type I. Case report. *Aust Dent J*. 1997;42(3):175-7.

122. Soares AP, do Espírito Santo, Renan Fernandes, Line SRP, Pinto, Maria das Graças Farias, de Moura Santos P, Toralles MBP, et al. Bisphosphonates: pharmacokinetics, bioavailability, mechanisms of action, clinical applications in children, and effects on tooth development. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2016.

123. Malmgren B, Andersson K, Lindahl K, Kindmark A, Grigelioniene G, Zachariadis V, et al. Tooth agenesis in osteogenesis imperfecta related to mutations in the collagen type I genes. *Oral Dis*. 2017;23(1):42-9.

CÓDIGO.....

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Doy mi consentimiento para que mi hijo/a:, forme parte de un estudio cuyo objetivo es la investigación de las repercusiones orales en la Osteogénesis Imperfecta, del que he sido informado/a y que lleva a cabo la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid.

Se me ha explicado que dicho estudio cuenta con la exploración oral, con la colaboración voluntaria de mi hijo/a, realizada por Graduadas en Odontología y consistirá en el examen bucal, la obtención de fotografías intraorales y de radiografías; todo ello para valorar la afectación a nivel dental secundaria a la Osteogénesis Imperfecta. Además, utilizarán dientes perdidos de forma natural, o extraídos por motivos justificados, para estudiar las alteraciones microscópicas. Todo ello sin coste alguno por mi parte. Me han informado que me comunicarán todos aquellos hallazgos relevantes para su salud y la posibilidad de consultarles cualquier duda al respecto.

Durante todo el proceso se protegerá la máxima confidencialidad del niño/a mediante un código numérico, respetando la Ley Orgánica de Protección de Datos de carácter personal, 15/1999 de 13 de diciembre.

Soy consciente de mi participación voluntaria y de la posibilidad de renunciar a formar parte del estudio en cualquier momento.

Madrid, a de..... de 20....

Nombre del firmante:

DNI: Firma:

Nombre del informante /médico/odontólogo:

DNI /nº de Colegiado: Firma:

CÓDIGO.....

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Doy mi consentimiento para que mi hijo/a:, forme parte de un estudio cuyo objetivo es la investigación de las repercusiones orales en la Osteogénesis Imperfecta, del que he sido informado/a y que lleva a cabo la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid.

Se me ha explicado que dicho estudio cuenta con la exploración oral, con la colaboración voluntaria de mi hijo/a. Además, utilizarán dientes perdidos de forma natural, o extraídos por motivos justificados, para estudiar las alteraciones microscópicas. Todo ello sin coste alguno por mi parte. Me han informado que me comunicarán todos aquellos hallazgos relevantes para su salud y la posibilidad de consultarles cualquier duda al respecto.

Durante todo el proceso se protegerá la máxima confidencialidad del niño/a mediante un código numérico, respetando la Ley Orgánica de Protección de Datos de carácter personal, 15/1999 de 13 de diciembre.

Soy consciente de mi participación voluntaria y de la posibilidad de renunciar a formar parte del estudio en cualquier momento.

Madrid, a de..... de 20....

Nombre del firmante:

DNI: Firma:

Nombre del informante /médico/odontólogo:

DNI /nº de Colegiado: Firma:

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

Hoja de información para el paciente para su participación en el estudio “*Estudio morfológico de la estructura dentaria con microscopía electrónica de barrido en pacientes con Osteogénesis Imperfecta*” realizado en la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid, cuya investigadora principal es Andrea Martín Vacas.

Introducción

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Investigación, de acuerdo a la legislación vigente, y se lleva a cabo con respeto a los principios enunciados en la declaración del Helsinki y a las normas de buena práctica clínica.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno. Si tiene alguna duda diríjase a Andrea Martín Vacas, investigadora principal, en la dirección de correo electrónico que a continuación se describe:

andrem02@ucm.es

Descripción general

La Dentinogénesis Imperfecta tipo I es una alteración hereditaria dentaria que afecta a la dentina y se presenta en asociación a la Osteogénesis Imperfecta. La Dentinogénesis Imperfecta-I se manifiesta con una gran variabilidad tanto en su presentación como en su severidad. Las alteraciones morfológicas de la dentina se manifiestan en cambios en el aspecto clínico y radiográfico de los dientes afectados. Muchos autores han descrito los hallazgos dentales de la Dentinogénesis Imperfecta, sin embargo a día de hoy no se ha llegado a un acuerdo en cuanto a los criterios para diagnosticar la afectación dentaria, por lo que es necesario un estudio protocolizado que describa y estudie las características de la afectación dentaria en los sujetos con Osteogénesis Imperfecta, dando lugar a una definición de la Dentinogénesis Imperfecta-I facilitando así la comunicación interprofesional y el manejo clínico de éstos pacientes.

Nuestra hipótesis de trabajo es que la alteración de la morfología dentaria a nivel ultraestructural debería estar relacionada con la afectación a radiológica y clínica. El objetivo del presente estudio es describir y estudiar la afectación de la dentición de sujetos con Osteogénesis Imperfecta a nivel ultraestructural, en comparación con un grupo control no afecto. Para ello se seleccionará una cohorte de dientes obtenidos de pacientes con Osteogénesis Imperfecta de acuerdo a unos criterios de inclusión y exclusión, para estudiar con microscopía electrónica de barrido los hallazgos a nivel del esmalte, unión amelodentinaria y

dentina; del mismo modo se seleccionará una muestra de dientes temporales de sujetos no afectados. Las diferentes variables clínicas, radiográficas y ultraestructurales obtenidas serán posteriormente analizadas mediante tests estadísticos.

Para la realización del estudio se recogerán radiografías orales (obtenidas por exámenes de rutina), imágenes clínicas (recogidas en revisiones odontológicas para evaluación de los cambios orales) y dientes procedentes de exodoncias justificadas o exfoliados de forma natural.

El sujeto participante del estudio deberá:

- Facilitar los datos médicos de su afectación sistémica.
- Permitir la utilización de sus imágenes clínicas, radiografías y dientes como muestra de estudio.
- Firmar el Consentimiento Informado.

Al finalizar el estudio el participante podrá conocer los resultados generales del estudio, y los resultados individuales que le pueden afectar, si es consciente de ello.

Recogida de muestras biológicas

Para llevar a cabo el análisis de las muestras en el microscopio electrónico de barrido será necesario la recogida de dientes que hayan sido extraídos de forma justificada, o que hayan sido exfoliados naturalmente. Las extracciones dentarias serán efectuadas en el ámbito de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid, durante la actividad del Título Propio de “Odontología Integrada en el niño con Necesidades Especiales”, o en la práctica privada de la investigadora principal. Una vez obtenidas las muestras se procederá a su preparación y análisis en el Centro Nacional de Microscopía Electrónica. La muestra será codificada y tratada confidencialmente durante la duración de este estudio, mediante un código que sólo el investigador y personal de su equipo podrá vincular con usted para preservar su identidad.

Al término de la investigación, su muestra será incorporada en una colección cuyo responsable es el investigador principal de este estudio (Andrea Martín Vacas) con el fin de ser utilizada en estudios posteriores en el ámbito de las repercusiones orales de la Osteogénesis Imperfecta. Si no quiere que sus muestras sean utilizadas en la posterioridad en otros estudios deberá de comunicarlo debidamente al investigador principal para que se proceda a la destrucción de las mismas.

Otra información relevante

Cualquier nueva información referente al estudio (información necesaria, metodología de investigación, etcétera) que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio o que se descubra durante su participación, le será comunicada por el investigador principal lo antes posible.

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos y, puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables previamente retenidas para evitar la realización de nuevos análisis, si bien los responsables del estudio podrán seguir utilizando la información recogida sobre usted hasta ese momento, a no ser que usted se oponga expresamente.

También debe saber que usted puede ser retirado del estudio en caso de que los responsables del estudio lo consideren oportuno, ya sea por motivos de seguridad, por cualquier acontecimiento adverso que se produzca por la medicación en estudio o porque consideren que no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo que ha ocasionado su retirada del estudio.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.

Estudios en menores de edad

En caso de que el participante sea menor de edad, de acuerdo con la legislación vigente, será informado de acuerdo a su capacidad de comprensión y será siempre escuchado. Además, en caso de que el paciente tenga 12 años cumplidos, se le explicará el estudio en un lenguaje sencillo y adaptado a su madurez, de acuerdo a su capacidad de entendimiento, y se recabará su asentimiento. Asimismo, se garantiza al menor el acceso a la información relativa a la utilización de su muestra cuando éste alcance la mayoría de edad.

Confidencialidad

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, y en su reglamento de desarrollo. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a (indicar dónde y cómo deberá hacerlo).

Para garantizar la confidencialidad de la información obtenida, sus datos y muestra estarán identificados mediante un código y solo su médico del estudio y colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo en caso de urgencia médica, requerimiento de la administración sanitaria o requerimiento legal.

Participación voluntaria

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin dar ningún tipo de explicación, así como solicitar la destrucción de la muestra. Si usted decide revocar su consentimiento, no se recogerán nuevos

datos, ni se realizarán nuevos análisis de la muestra, pero esta revocación no afectará a las investigaciones realizadas hasta el momento.

Agradecimiento

Sea cual sea su decisión, tanto el promotor como el equipo investigador quieren agradecer su tiempo y atención. Usted está contribuyendo al mejor conocimiento y cuidado de la Osteogénesis Imperfecta, lo que en el futuro puede beneficiar a multitud de personas.

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

Hoja de información para el paciente para su participación en el estudio “*Estudio morfológico de la estructura dentaria con microscopía electrónica de barrido en pacientes con Osteogénesis Imperfecta*”, realizado en la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid, cuya investigadora principal es Andrea Martín Vacas.

Introducción

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Investigación, de acuerdo a la legislación vigente, y se lleva a cabo con respeto a los principios enunciados en la declaración del Helsinki y a las normas de buena práctica clínica.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno. Si tiene alguna duda diríjase a Andrea Martín Vacas, investigadora principal, en la dirección de correo electrónico que a continuación se describe:

andrem02@ucm.es

Descripción general

La Dentinogénesis Imperfecta tipo I es una alteración hereditaria dentaria que afecta a la dentina y se presenta en asociación a la Osteogénesis Imperfecta. La Dentinogénesis Imperfecta-I se manifiesta con una gran variabilidad tanto en su presentación como en su severidad. Las alteraciones morfológicas de la dentina se manifiestan en cambios en el aspecto clínico y radiográfico de los dientes afectados. Muchos autores han descrito los hallazgos dentales de la Dentinogénesis Imperfecta, sin embargo a día de hoy no se ha llegado a un acuerdo en cuanto a los criterios para diagnosticar la afectación dentaria, por lo que es necesario un estudio protocolizado que describa y estudie las características de la afectación dentaria en los sujetos con Osteogénesis Imperfecta, dando lugar a una definición de la Dentinogénesis Imperfecta-I facilitando así la comunicación interprofesional y el manejo clínico de éstos pacientes.

Nuestra hipótesis de trabajo es que la alteración de la morfología dentaria a nivel ultraestructural debería estar relacionada con la afectación a radiológica y clínica. El objetivo del presente estudio es describir y estudiar la afectación de la dentición de sujetos con Osteogénesis Imperfecta a nivel ultraestructural, en comparación con un grupo control no afecto. Para ello se seleccionará una cohorte de dientes obtenidos de pacientes con Osteogénesis Imperfecta de acuerdo a unos criterios de inclusión y exclusión, para estudiar con microscopía electrónica de barrido los hallazgos a nivel del esmalte, unión amelodentinaria y

dentina; del mismo modo se seleccionará una muestra de dientes temporales de sujetos no afectados. Las diferentes variables clínicas, radiográficas y ultraestructurales obtenidas serán posteriormente analizadas mediante tests estadísticos.

Para la realización del estudio se recogerán radiografías orales (obtenidas por exámenes de rutina), imágenes clínicas (recogidas en revisiones odontológicas para evaluación de los cambios orales) y dientes procedentes de exodoncias justificadas o exfoliados de forma natural. Así, se recogerán muestras dentarias procedentes de sujetos control, sin patología sistémica, con el fin de poder efectuar un adecuado análisis de la estructura dentaria de los sujetos afectados.

El sujeto participante del estudio deberá:

- Facilitar los datos médicos de su estado de salud general.
- Permitir la utilización de dientes como muestra de estudio.
- Firmar el Consentimiento Informado.

Al finalizar el estudio el participante podrá conocer los resultados generales del estudio, y los resultados individuales que le pueden afectar, si es consciente de ello.

Recogida de muestras biológicas de sujetos control

Para llevar a cabo el análisis de las muestras en el microscopio electrónico de barrido será necesario la recogida de dientes que hayan sido extraídos de forma justificada, o que hayan sido exfoliados naturalmente. Las extracciones dentarias serán efectuadas en el ámbito de la actividad profesional privada de los investigadores principales del estudio. Una vez obtenidas las muestras se procederá a su preparación y análisis en el Centro Nacional de Microscopía Electrónica. La muestra será codificada y tratada confidencialmente durante la duración de este estudio, mediante un código que sólo el investigador y personal de su equipo podrá vincular con usted para preservar su identidad.

Al término de la investigación, su muestra será incorporada en una colección cuyo responsable es el investigador principal de este estudio (Andrea Martín Vacas) con el fin de ser utilizada en estudios posteriores en el ámbito del estudio la estructura dentaria. Si no quiere que sus muestras sean utilizadas en la posterioridad en otros estudios deberá de comunicarlo debidamente al investigador principal para que se proceda a la destrucción de las mismas.

Otra información relevante

Cualquier nueva información referente al estudio (información necesaria, metodología de investigación, etcétera) que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio o que se descubra durante su participación, le será comunicada por el investigador principal lo antes posible.

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos y, puede exigir la destrucción

de todas las muestras identificables previamente retenidas para evitar la realización de nuevos análisis, si bien los responsables del estudio podrán seguir utilizando la información recogida sobre usted hasta ese momento, a no ser que usted se oponga expresamente.

También debe saber que usted puede ser retirado del estudio en caso de que los responsables del estudio lo consideren oportuno, ya sea por motivos de seguridad, por cualquier acontecimiento adverso que se produzca por la medicación en estudio o porque consideren que no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo que ha ocasionado su retirada del estudio.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.

Estudios en menores de edad

En caso de que el participante sea menor de edad, de acuerdo con la legislación vigente, será informado de acuerdo a su capacidad de comprensión y será siempre escuchado. Además, en caso de que el paciente tenga 12 años cumplidos, se le explicará el estudio en un lenguaje sencillo y adaptado a su madurez, de acuerdo a su capacidad de entendimiento, y se recabará su asentimiento. Asimismo, se garantiza al menor el acceso a la información relativa a la utilización de su muestra cuando éste alcance la mayoría de edad.

Confidencialidad

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, y en su reglamento de desarrollo. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a (indicar dónde y cómo deberá hacerlo).

Para garantizar la confidencialidad de la información obtenida, sus datos y muestra estarán identificados mediante un código y solo su médico del estudio y colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo en caso de urgencia médica, requerimiento de la administración sanitaria o requerimiento legal.

Participación voluntaria

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin dar ningún tipo de explicación, así como solicitar la destrucción de la muestra. Si usted decide revocar su consentimiento, no se recogerán nuevos datos, ni se realizarán nuevos análisis de la muestra, pero esta revocación no afectará a las investigaciones realizadas hasta el momento.

Agradecimiento

Sea cual sea su decisión, tanto el promotor como el equipo investigador quieren agradecer su tiempo y atención. Usted está contribuyendo al mejor conocimiento y cuidado de la Osteogénesis Imperfecta, lo que en el futuro puede beneficiar a multitud de personas.



Hospital Clínico San Carlos

Comunidad de Madrid

Informe Dictamen Favorable

C.P. - C.I. 17/326-E Tesis

21 de agosto de 2017

CEIC Hospital Clínico San Carlos

Dra. Mar García Arenillas
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

CERTIFICA

Que el CEIC Hospital Clínico San Carlos en su reunión del día 09/08/2017, acta 8.1/17 ha evaluado la propuesta de la Tesis:

Título: ESTUDIO MORFOLÓGICO DE LA ESTRUCTURA DENTARIA CON MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO EN PACIENTES CON OSTEÓGENESIS IMPERFECTA

Código Interno: 17/326-E Tesis

Doctoranda en Ciencias Odontológicas: Andrea Martín Vacas.

Directores: Dres. Vicente Vera González y M. Joaquín de Nova García.

Que en este estudio:

- o Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- o Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- o La capacidad del investigador y los medios disponibles son adecuados para llevar a cabo el estudio.
- o El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto de los postulados éticos.
- o Se cumplen los preceptos éticos formulados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y en sus posteriores revisiones, así como aquellos exigidos por la normativa legal aplicable en función de las características del estudio.

Es por ello que el Comité **informa favorablemente** sobre la realización de dicho proyecto.

Lo que firmo en Madrid, a 21 de agosto de 2017

Dra. Mar García Arenillas
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos